

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE INGENIERÍA MECÁNICA Y ELÉCTRICA



“Nanocompuestos de polianilina/óxido de grafeno preparados mediante síntesis enzimática”

T E S I S

para obtener el grado de
**MAESTRÍA en *Ingeniería Mecánica con
Especialidad en Materiales***

P r e s e n t a
Cynthia Guerrero Bermea

Asesores de Tesis
Dra. Selene Sepúlveda Guzmán
Dr. Rodolfo Cruz Silva

La parte experimental de este trabajo y la escritura de la tesis, fueron realizadas en los laboratorios del Centro de Investigación, Innovación y Desarrollo de Ingeniería y Tecnología de la Universidad Autónoma de Nuevo León, bajo la asesoría de la Dra. Selene Sepúlveda Guzmán. Parte de la caracterización se realizó en una estancia realizada a la Universidad del Estado de Pensilvania en State College, Estados Unidos, con la asesoría de la Dra. Ana Laura Elías, investigadora del departamento de física, así como también se contó con la colaboración del Dr. Rodolfo Cruz Silva, investigador del Centro de Investigación de Nanocarbono Exótico de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Shinshu en Nagano, Japón.

ATENTAMENTE

I.Q. Cynthia Guerrero Bermea

AGRADECIMIENTOS

Primeramente manifiesto mi agradecimiento a Dios y al apoyo de mi familia por permitirme realizar los estudios de maestría.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para realizar estudios de maestría (No. de beca: 55638) y por la beca mixta para realizar una estancia por dos meses en la Universidad del Estado de Pensilvania (PSU).

Quiero agradecer también a los Doctores Selene Sepúlveda Guzmán y Rodolfo Cruz Silva por la oportunidad de trabajar bajo su asesoría, por su tiempo y apoyo a lo largo de un año de investigación.

Agradezco de igual forma al grupo de trabajo formado por Adriana Huízar Félix, Andrés Castro Beltrán, Luis Ernesto Jasso Ramos, Samuel Martínez Ortiz, José de Jesús Infante Rivera y Pablo Chávez Granados por su apoyo en actividades de laboratorio, manejo de software y por haber compartido parte de sus conocimientos conmigo.

De la misma forma expreso mi agradecimiento al personal del Centro de Innovación, Investigación y Desarrollo en Ingeniería y Tecnología que ayudaron a tener una agradable estancia en los laboratorios y demás áreas del edificio.

Nuevamente agradezco al CONACYT por su apoyo para realizar una estancia por dos meses a la Universidad del Estado de Pensilvania (PSU).

Muestro mi agradecimiento al grupo de investigadores dirigidos por el Dr. Humerto Terrones de la PSU, en especial a la Dra. Ana Laura Elías quien me dirigió durante mi estancia en esta Universidad.

Finalmente agradezco a la Universidad de Shinshu en Japón por facilitar algunos de sus equipos para hacer posible parte de la investigación de este trabajo.

GRACIAS

ÍNDICE

Lista de abreviaturas

Lista de figuras

Lista de tablas

Resumen

Capítulo 1. Introducción

- 1.1 Polímeros conductores
 - 1.1.1 Historia de los polímeros conductores
- 1.2 Polianilina
 - 1.2.1 Estructura molecular de la polianilina
 - 1.2.2 Métodos de síntesis de la polianilina
 - 1.2.2.1 Síntesis enzimática de la polianilina con peroxidasa de rábano picante
- 1.3 Nanoestructuras del carbón
 - 1.3.1 Grafeno y sus derivados
- 1.4 Nanocompuestos de polianilina con nanoestructuras de carbón
- 1.5 Hipótesis
- 1.6 Objetivos
 - 1.6.1 Objetivo general
 - 1.6.2 Objetivos específicos

Capítulo 2. Desarrollo experimental

- 2.1 Materiales y reactivos
 - 2.2 Métodos de síntesis
 - 2.2.1 Preparación de óxido de grafeno y óxido de grafeno nanométrico
 - 2.2.2 Síntesis de polianilina vía enzimática
 - 2.2.3 Síntesis de compuestos de polianilina con óxido de grafeno y de polianilina con óxido de grafeno nanométrico vía enzimática
-

2.2.4 Preparación de películas de polianilina *in-situ* sobre cristales de cuarzo recubiertos con oro.

2.2.5 Preparación de películas de compuestos de polianilina con óxido de grafeno y de polianilina con óxido de grafeno nanométrico *in-situ* sobre cristales de cuarzo recubiertos con oro.

2.3 Caracterización

2.3.1 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

2.3.2 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

2.3.3 Espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis)

2.3.4 Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)

2.3.5 Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS)

2.3.6 Espectroscopía de Raman

2.3.7 Análisis termogravimétrico (TGA)

2.3.8 Voltametría cíclica

Capítulo 3. Resultados y discusiones

3.1 Obtención y caracterización del óxido de grafeno y óxido de grafeno nanométrico

3.2 Síntesis y caracterización de los compuestos de polianilina con óxido de grafeno y de polianilina con óxido de grafeno nanométrico vía enzimática

3.3 Preparación y caracterización de películas de compuestos de polianilina con óxido de grafeno y de polianilina con óxido de grafeno nanométrico *in-situ* sobre cristales de cuarzo recubiertos con oro.

Capítulo 4. Conclusiones

Referencias

LISTA DE ABREVIATURAS

PANI	Polianilina
PPy	Polipirrol
PEDOT	Poli(3,4- etilendioxitiofeno)
GO	Óxido de grafeno
nGO	Óxido de grafeno nanométrico
CNT	Nanotubos de carbono
TSA	Ácido toluensulfónico
HRP	Peroxidasa de rábano
PANI_GO	Compuestos de polianilina con óxido de grafeno
PANI_GO1	Compuestos de polianilina con 1% en peso de óxido de grafeno
PANI_GO2.5	Compuestos de polianilina con 2.5% en peso de óxido de grafeno
PANI_GO5	Compuestos de polianilina con 5% en peso de óxido de grafeno
PANI_nGO	Compuestos de polianilina con óxido de grafeno nanométrico
PANI_nGO1	Compuestos de polianilina con 1% en peso de óxido de grafeno nanométrico
PANI_nGO2.5	Compuestos de polianilina con 2.5% en peso de óxido de grafeno nanométrico
PANI_nGO5	Compuestos de polianilina con 5% en peso de óxido de grafeno nanométrico
CVD	Deposición química de vapor
SEM	Microscopía electrónica de barrido
TEM	Microscopía electrónica de transmisión
XPS	Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X
UV-Vis	Ultravioleta-visible

FTIR	Infrarrojo con transformada de Fourier
TGA	Termogravimétrico
PVC	Policloruro de vinilo
EDTA	Ácido etilendiamintetracético
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
P ₂ O ₅	Pentóxido de fosforo
K ₂ S ₂ O ₈	Persulfato de potasio
KMnO ₄	Permanganato de potasio
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrógeno
NaCl	Cloruro de sodio
KBr	Bromuro de potasio
QCM	Microbalanza de cristal de cuarzo
OCP	Potenciostato de circuito abierto

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Polianilina en su estado de oxidación de emeraldina base.

Figura 2. Estados de oxidación de la forma base de la polianilina.

Figura 3. Peroxidasa de rábano recombinada tipo C1A.

Figura 4. Línea del tiempo sobre el descubrimiento de las estructuras del carbón.

Figura 5. Diseño del grafeno, óxido de grafeno y óxido de grafeno reducido.

Figura 6. Metodología para la preparación de materiales y su tipo de caracterización.

Figura 7. Diagrama del procedimiento para la síntesis del óxido de Grafeno por medio del método de Hummers modificado.

Figura 8. Montaje del reactor donde se lleva a cabo la síntesis de la polianilina y sus compuestos.

Figura 9. Pasos para colocar el cristal de cuarzo recubierto con oro en la balanza.

Figura 10. Montaje del reactor de la síntesis para preparación de películas in-situ conectado con un puente de salino a una solución de NaCl con electrodo de referencia.

Figura 11. Estabilidad coloidal después de 80 días del GO y nGO a pH=4, pH=7 y pH=10 en medio acuoso.

Figura 12. Micrografías de SEM de a)GO y b)nGO sobre sustrato de silicio.

Figura 13. Micrografías de TEM de soluciones acuosas de (a y b) GO y (c y d) nGO, montado sobre una rejilla de cobre recubierta con una película discontinua de silicio.

Figura 14. Espectros de UV-Vis de GO y nGO en medio acuoso a) neutro, b) ácido y c) básico.

Figura 15. Espectros de FTIR de GO y nGO.

Figura 16. Espectros de XPS de baja resolución para las muestras de a)GO y b)nGO. Las tablas inset muestran la composición atómica calculada semicuantitativamente de los picos C1s y O1s mostrados.

Figura 17. Deconvolución del pico C1s para las muestras de GO y nGO.

Figura 18. Espectros de Raman del GO y nGO, modificados con línea base y algoritmo de promedios vecinales para disminuir el ruido.

Figura 19. Análisis de TGA para las muestras de GO y nGO.

Figura 20. Dispersiones con agua desionizada, hidróxido de amonio y ácido clorhídrico de (a)PANI, (b, c, d) PANI_GO al 1.0%, 2.5% y 5.0% respectivamente, (e, f, g) PANI_nGO al 1.0%, 2.5% y 5.0%.

Figura 21. Micrografías de SEM de a) PANI, b)PANI_GO1, c)PANI_GO2.5 y d)PANI_GO5.

Figura 22. Micrografías de SEM de a) PANI, b)PANI_nGO1, c)PANI_nGO2.5 y d)PANI_nGO5.

Figura 23. Micrografías de TEM de a) PANI, b)PANI_GO2.5 y c)PANI_nGO2.5.

Figura 24. Espectros de UV-Vis de los compuestos a)PANI_GO y b)PANI_nGO dispersados en medio acuoso neutro.

Figura 25. Espectros de FTIR de los compuestos PANI_GO.

Figura 26. Espectros de FTIR de los compuestos PANI_nGO.

Figura 27. Espectros de XPS de baja resolución para los compuestos de PANI_GO.

Figura 28. Espectros de XPS de baja resolución para los compuestos de PANI_nGO

Figura 29. Deconvolución del pico C1s de la PANI y los compuestos PANI_GO2.5 y PANI_nGO2.5.

Figura 30. Espectros de Raman de la PANI y nanocompuestos PANI_GO, modificados con algoritmo de promedios vecinales para disminuir el ruido.

Figura 31. Espectros de Raman de la PANI y nanocompuestos PANI_nGO, modificados con algoritmo de promedios vecinales para disminuir el ruido.

Figura 32. Análisis de TGA para las compuestos a) PANI_GO y b) PANI_nGO.

Figura 33. Micrografías de SEM de las películas obtenidas *in-situ* enzimáticamente de a) PANI, (b y c) PANI_GO2.5 y (d y e) PANI_nGO2.5.

Figura 34. Voltametría cíclica aplicada a las películas de la PANI y los nanocompuestos PANI_GO2.5 y PANI_nGO2.5 sintetizados enzimáticamente.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Por ciento en peso del GO o nGO en los compuestos con PANI y los mililitros de solución correspondiente teniendo una concentración de GO y nGO = 2.1 mg/mL.

Tabla 2. Composición elemental relativa (o semicuantitativa de la PANI y los compuestos PANI-GO obtenidas mediante XPS.

Tabla 3. Composición elemental relativa (o semicuantitativa de la PANI y los compuestos PANI-nGO obtenidas mediante XPS.

RESUMEN

En este trabajo, se llevó a cabo la síntesis y caracterización del óxido de grafeno y polianilina (PANI). Se estudió el efecto de dispersiones acuosas de óxido de grafeno (GO) y óxido de grafeno de tamaño nanométrico (nGO) en la polimerización enzimática de polianilina (PANI). El objetivo principal fue obtener un material compuesto de carbono y polímero conductor con la intención de mejorar las propiedades eléctricas y mecánicas de este último. Diferentes técnicas de caracterización fueron utilizadas para analizar y comparar la diferencia entre las propiedades de la polianilina y las de los compósitos resultantes.

El GO se obtuvo por medio del método de Hummers modificado, obteniéndose una suspensión acuosa que se sometió durante varias horas a ultrasonido para obtener las partículas nanométricas del nGO. Antes de realizar la síntesis de los compósitos, se midió el tamaño lateral de las hojas del GO y nGO, siendo 12.50 μm y 247 nm respectivamente.

La polimerización enzimática de la PANI fue llevada a cabo en medio acuoso utilizando ácido toluensulfónico (TSA) como dopante, peroxidasa de rábano (HRP) como catalizador y peróxido de hidrógeno (H_2O_2) como oxidante. Como material de referencia se obtuvo PANI pura y posteriormente se realizaron reacciones de polimerización utilizando 1.0, 2.5 y 5.0 % en peso del GO y nGO. No se observaron cambios en la actividad de la enzima que se pudieran relacionar con la presencia del GO y nGO. La morfología de la PANI, del GO, nGO y de los nanocompuestos de PANI-GO/nGO fue estudiada por medio de microscopía electrónica de barrido (SEM) y microscopía electrónica de transmisión (TEM). Caracterización adicional se realizó por medio de análisis termogravimétrico (TGA) y técnicas de espectroscopía tales como espectroscopía ultravioleta-visible (UV—Vis), espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR), espectroscopía Raman y espectroscopía fotoelectrónica de Rayos X (XPS). También se obtuvieron películas *in situ* durante las polimerizaciones. Las películas de la PANI y los nanocompósitos fueron caracterizadas por medio de TEM y por voltametría cíclica.

Los resultados del análisis por microscopía electrónica mostraron que durante la polimerización enzimática la PANI recubre completamente las hojas de GO y nGO. Esto fue corroborado

mediante los resultados obtenidos por XPS, en donde la concentración de PANI no disminuye en la superficie de las hojas de GO. Estos resultados junto con los resultados de la caracterización espectroscópica muestran la obtención de un material híbrido de PANI-GO/nGO con interacciones tipo Van der Waals entre los grupos funcionales a base de oxígeno del GO y el enlace amino secundario (-NH-) de la PANI.

Por otro lado, se realizaron mediciones simultaneas utilizando microbalanza de cristal de cuarzo (QCM) y potencióstato de circuito abierto (OCP) para monitorear la polimerización enzimática de la PANI y compuestos de PANI-GO/nGO 2.5% por medio del depósito de películas *in-situ*. Las películas obtenidas por esta última técnica fueron caracterizadas por voltametría cíclica y su morfología fue analizada por SEM.

La información obtenida de la QCM mostró información sobre la cinética de la reacción, ya que el cristal de cuarzo es sensible al depósito de las películas. Las micrografías de SEM muestran una morfología irregular de las películas.

Capítulo 1
INTRODUCCIÓN

En los últimos 35 años los polímeros conductores han suscitado un gran interés para la industria y para la investigación debido a sus características especiales, tales como peso ligero, funcionalidad orgánica y comportamiento electrónico único [1]. La polianilina (PANI) [2-3] es uno de los polímeros conductores más interesante por poseer una buena estabilidad química, conductividad ajustable y un interesante comportamiento electrocrómico [4]. Este polímero conductor puede ser sintetizado con éxito por medio de diferentes rutas de oxidación de la anilina, y entre los métodos más comunes se encuentran los métodos electroquímicos [5], químicos [6] o enzimáticos [2]. La síntesis enzimática de la PANI es un método que resulta atractivo por las características de la enzima, entre las más destacadas se tiene que es biodegradable, no tóxica, energéticamente eficiente y es obtenida a partir de recursos renovables [7]. Además, los métodos de síntesis enzimáticos tienen como característica que son amigables con el medio ambiente, ya que no general productos tóxicos. Por otro lado, la combinación de polianilina con nanomateriales de carbono podría mejorar las propiedades eléctricas y mecánicas de este polímero. El grafeno es un nanomaterial de dos dimensiones formado por una monocapa constituida por átomos de carbono enlazados en un arreglo hexagonal y cuyo espesor es de un átomo. El estudio del grafeno ha tomado gran interés debido a sus propiedades eléctricas, térmicas y mecánicas [8-9]. En la actualidad, existen diferentes métodos para preparar grafeno como son la exfoliación micromecánica [10], depósito químico de vapor [11], crecimiento epitaxial [12] y reducción química del óxido de grafito [13]. El óxido de grafito puede ser tratado también por exfoliación mecánica para obtener óxido de grafeno. Recientemente, el óxido de grafeno (GO) ha ganado atención como un precursor de grafeno. El GO es eléctricamente aislante con un área superficial superior a la mayoría de los nanomateriales de carbono, lo que favorece la formación de materiales compuestos [6]. Además el GO es fácil de dispersar en agua. Sin embargo, debido a su morfología de hoja y su gran relación de aspecto, la viscosidad de las dispersiones de GO es alta, incluso a bajas concentraciones. Para solucionar este problema, se ha estudiado la preparación de nanoláminas de GO, dando como resultado dispersiones muy estables de menor viscosidad [14]. Nanocompuestos basados en polímeros conductores y GO podría combinar las propiedades

de ambos materiales resultando en nuevos materiales con potenciales aplicaciones en las ciencias biológicas [6], sensores [15], actuadores [16], tecnologías de separación [17], y dispositivos de almacenamiento de energía [18].

En este capítulo se hablará de manera general acerca de los conceptos básicos que se relacionan con los materiales compuestos, en especial a los que refieren a los polímeros conductores. De igual manera, se hará mención en forma breve de la historia que hay detrás del trabajo con estos materiales, sus descubrimientos actuales y posibles aplicaciones.

1.1 POLÍMEROS CONDUCTORES

Los polímeros son considerados materiales eléctricamente poco conductores, incluso aislantes. Sin embargo, en los últimos 35 años se han estudiado polímeros que poseen conductividad eléctrica comparable con la de conductores metálicos. Dentro de estos materiales conductores se identifican dos tipos, los polímeros conductores extrínsecos y los polímeros conductores intrínsecos.

Los conductores extrínsecos son materiales compuestos formados entre un polímero (matriz) y una carga conductora dispersa, generalmente negro de humo, o polvo, fibras y hojuelas metálicas, etc. [19]. El incremento en la concentración de la carga conductora en la matriz polimérica favorece la formación de una cadena que da lugar a la conductividad eléctrica.

Por otro lado, los conductores intrínsecos deben su conductividad a la conjugación de su cadena, es decir, a la existencia de enlaces sencillos y enlaces dobles alternados a lo largo de ella. Los electrones situados en los orbitales electrónicos π se consideran electrones deslocalizados y pueden moverse en la cadena carbonada para producir la conducción eléctrica. Uno de los ejemplos de este tipo de polímeros conductores intrínsecos es la polianilina.

1.1.1 HISTORIA DE LOS POLÍMEROS CONDUCTORES

La historia de los polímeros conductores empezó en los años 70's, sin embargo, como en todos los descubrimientos, existen estudios reportados con anterioridad sobre los polímeros en su forma no conductora, incluso en su forma conductora pero sin prestarles gran atención. Uno de los polímeros conductores que fue descubierto, mas no profundamente estudiado, es la polianilina. En 1862 Henry Letheby [20] preparó polianilina por medio de un método electroquímico y el polímero resultante era conductor, mostrando también un comportamiento electrocrómico, sin embargo, no se prestó gran interés a dicho descubrimiento.

Fue hasta 1977 cuando los científicos Shirakawa, Heeger y Mac Diarmid sintetizaron películas de poliacetileno obteniendo como resultado un polímero intrínsecamente conductor con una conductividad muy elevada. En colaboración con Heeger y MacDiarmid, quienes expusieron las películas a vapores de yodo, lograron obtener un polímero con una conductividad aun mayor que la obtenida inicialmente [21]. Debido a este descubrimiento, Shirakawa y colaboradores recibieron el Premio Nóbel de Química en el año 2000.

A partir de los descubrimientos de Shirakawa y colaboradores, los polímeros conductores han sido estudiados con gran interés. Sin embargo, debido a la inestabilidad química que presenta el poliacetileno, actualmente la polianilina, el polipirrol y los politiofenos son los polímeros conductores más ampliamente estudiados.

1.2 POLIANILINA

La polianilina (PANI) es un polímero originado por la unión de moléculas de anilina formando una larga cadena. La síntesis de la polianilina por oxidación de la anilina se lleva a cabo en medio ácido. La Figura 1 representa el modelo molecular de este polímero.

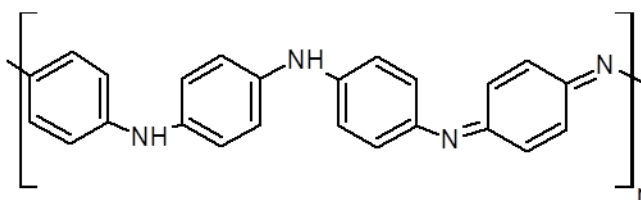


Figura 1. Polianilina en su estado de oxidación de emeraldina base

La PANI es considerada un polímero conductor intrínseco con una alta conductividad eléctrica, y que a su vez es capaz de incrementar su conductividad cuando es dopado con otro material.

La capacidad de la PANI para conducir electricidad, sumado a su estabilidad química y a su reversibilidad oxidativa, ha generado gran atención a los investigadores por su amplia gama de aplicaciones. Sin embargo, debido a que la PANI es prácticamente infusible y poco soluble en solventes orgánicos, el procesamiento de este polímero se ve limitado. Actualmente se llevan a cabo estudios que permitan conservar las propiedades conductoras de la PANI, pero que a la vez faciliten su procesado. Un ejemplo es la polimerización de la anilina en dispersión, usada para obtener partículas coloidales dispersables en agua. Estas dispersiones pueden ser procesadas como películas o bien mezcladas con otros materiales para preparar compósitos [22].

1.2.1 ESTRUCTURA MOLECULAR DE LA POLIANILINA

La estructura molecular de la PANI depende del mecanismo de polimerización de la anilina. Bajo condiciones ácidas, se obtiene la estructura lineal debido a un acoplamiento 1,4 de radicales de anilina. Bajo condiciones cercanas al medio neutro o pH alcalinas, los radicales de anilina pueden acoplarse mediante sustitución orto y para, o incluso seguir una multisustitución, y producir una estructura entrecruzada [23].

Existen varios estados de oxidación de la PANI (Figura 2). Algunos de los estados de oxidación son la Leucoemeraldina, cuando está completamente reducida; Emeraldina, cuando está parcialmente oxidada; Pernigranilina, cuando está completamente oxidada. Al cambiar de grado de oxidación hay una variación en su conductividad que va desde $10^{-12} \text{ S cm}^{-1}$ hasta 10^2 S cm^{-1} [24].

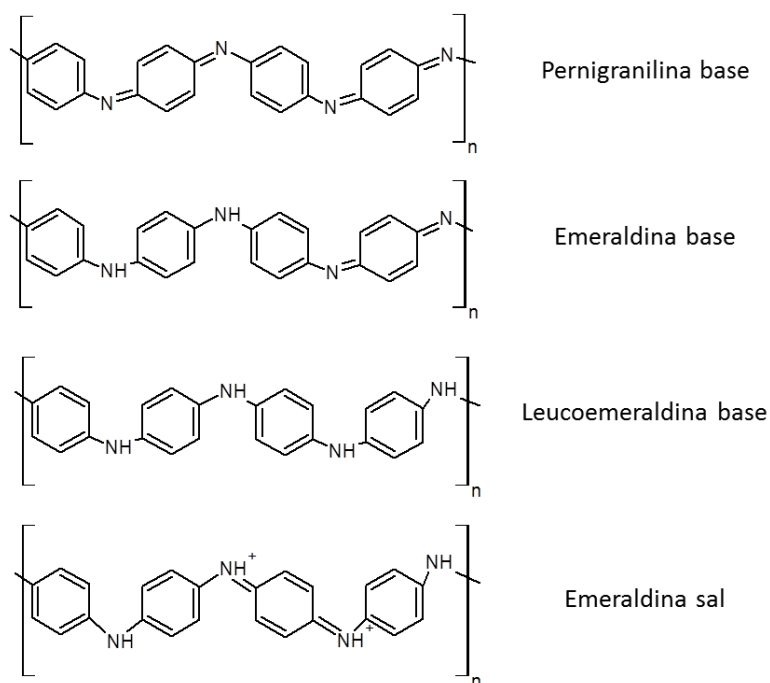


Figura 2. Estados de oxidación de la forma base de la Polianilina.

1.2.2 MÉTODOS DE SÍNTESIS DE LA POLIANILINA

Existen diferentes métodos de síntesis de la polianilina, entre los más comunes se encuentran los siguientes

- 1) **Oxidación química:** La oxidación química consiste en el uso de oxidantes con un potencial químico igual o mayor al potencial de oxidación del monómero que se quiere oxidar.

La oxidación de la anilina se lleva a cabo en una solución ácida utilizando oxidantes como persulfato de amonio, tricloruro férrico, dicromato de potasio, entre otros, dando lugar a la polianilina (PANI).

Se ha investigado el efecto de la cantidad de oxidante utilizada en las reacciones de polimerización, encontrando que el uso de grandes cantidades de oxidante produce la degradación del polímero [25]. Otro factor importante en este tipo de síntesis es la temperatura inicial de la

polimerización, teniendo efecto sobre el peso molecular del producto resultante y la velocidad de reacción.

- 2) *Oxidación electroquímica*: La oxidación electroquímica se produce mediante reacciones anódicas sobre un electrodo inerte. El sistema está formado por el monómero, un disolvente y un electrolito, normalmente un ácido prótico.

Las reacciones anódicas producidas electroquímicamente son iniciadas por un flujo de corriente anódica que puede ser generada por diferentes métodos como el potencioestático, el galvanostático o el modo potenciodinámico. Esta reacción genera radical-cationes, los cuales se localizan sobre el electrodo, donde tiene lugar la polimerización [26].

Una vez iniciado el proceso de polimerización, el polímero crece sobre el electrodo, donde puede cuantificarse la influencia de los parámetros físicos y químicos en la cinética o en los procesos de nucleación [27].

- 3) *Oxidación enzimática*: Una oxidación enzimática se lleva a cabo utilizando peroxidasas como catalizador. Para la oxidación enzimática de la PANI, la anilina se hace reaccionar utilizando un sistema de peroxidasa/peróxido de hidrógeno.

Las enzimas provienen de fuentes naturales como de animales, vegetales y bacterias, entre las más comunes. Las enzimas pueden obtenerse directamente del extracto, siendo posteriormente clarificadas y concentradas (en solución) o desecadas (sólido). Sin embargo, existen métodos que permiten aislar y purificar las enzimas a gran escala con

buen rendimiento y calidad de los productos enzimáticos [28]. Entre las enzimas más comunes utilizadas para la síntesis de la PANI se encuentran la peroxidasa de rábano y la de soya.

1.2.2.1 SÍNTESIS ENZIMÁTICA DE LA POLIANILINA CON PEROXIDASA DE RABANO PICANTE

Como se vio en temas anteriores, la PANI puede ser sintetizada enzimáticamente. La peroxidasa de rábano (HRP) es uno de los catalizadores que se utiliza en la oxidación de la anilina junto con oxidantes como el peróxido de hidrógeno.

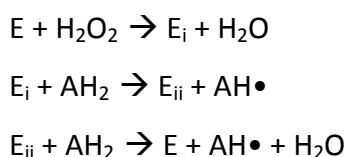
La HRP es una mezcla de isoenzimas recuperada de los extractos de la raíz del rábano picante. La HRP tiene un enlace no covalente a un grupo hemo (Fe^{3+} protoporfirina IV) centrado con enlaces de calcio próximos y distantes al hemo, cuatro puentes disulfuro y ocho cadenas enlazadas N-carbohidratadas. La isoenzima más común se denomina HRP-C, que tiene un punto isoeléctrico de 8.8 y un peso molecular de 44 kDa. Las moléculas de HRP poseen una estructura en forma oval con una dimensión promedio de 6.2 nm x 4.3 nm x 1.2 nm, la cual es más grande en solución debido a la capa de agua (6.8 nm x 4.4 nm x 4.0 nm) [29]. En la Figura 3 se muestra una estructura tridimensional de la HRP recombinada, con una composición principal de la HRP-C.



Figura 3. Peroxidasa de Rábano recombinada tipo C1A [30].

La actividad de la HRP esta determinada por su grupo Hemo, donde el átomo central (hierro) originada un ciclo de reducción y oxidación.

Las peroxidasas, en presencia de H_2O_2 y en un medio adecuado, catalizan la oxidación de la anilina. El mecanismo de oxidación por peroxidasas ocurre como se muestra en el siguiente esquema:



Donde AH_2 representa la anilina y E la HRP. La HRP es oxidada por el H_2O_2 para generar E_i . El compuesto E_i oxida la anilina (AH_2) y se reduce a E_{ii} , este compuesto oxida una segunda molécula de anilina y se reduce para recuperar su estado original E [31].

Algunas desventajas de la polimerización enzimática son la pérdida de actividad de la enzima por medios de reacción muy ácidos y la pérdida, en general, de la enzima.

1.3 NANOESTRUCTURAS DE CARBON

El carbón es uno de los elementos químicos más abundantes en la tierra. Actualmente es considerado también uno de los materiales más estudiados debido a que puede encontrarse en diferentes estructuras, algunas de las cuales presentan propiedades conductoras de interés.

Las diferentes estructuras del carbón dependen del tipo de configuración electrónica que presenten (hibridaciones) [32]. El diamante y el grafito fueron las primeras estructuras cristalinas de carbón estudiadas. El diamante es una estructura cúbica

cristalina con hibridación sp^3 , mientras que el grafito muestra una hibridación tipo sp^2 que le permite formar hojas bidimensionales de átomos de carbón apiladas.

En 1985 el estudio de los materiales de carbón tomó mayor importancia con el descubrimiento del fullereno. Este descubrimiento fue realizado por los investigadores Kroto, Curl y Smalley [33], quienes recibieron el Premio Nobel de Química en el año de 1996 a raíz del hallazgo de una nueva forma alotrópica del carbono. Los fullerenos son estructuras formadas por átomos de carbón con diferentes arreglos, donde la más conocida es una molécula de sesenta átomos de carbón formada por veinte hexágonos y doce pentágonos, con un acomodo que simula a un balón de fútbol.

Una nueva estructura del carbón fue dada a conocer en 1991 cuando el científico japonés Sumio Iijima publicó un artículo sobre nanotubos de carbono (CNT), sin embargo el Dr. Morinobu Endo ya los había observado en el año 1976 [34]. Los CNT son láminas de grafito enrolladas. Los nanotubos pueden formar estructuras que contengan un nanotubo dentro de otro (o varios), recibiendo entonces el nombre de nanotubos sobre capa o multicapa, respectivamente. Otro arreglo de los nanotubos es cuando se unen por sus extremos para formar fibras o hilos.

Recientemente los científicos Novoselov y Geim lograron aislar un nuevo material a base de carbón conocido como grafeno [35]. El descubrimiento fue hecho en el año 2004, lo que llevó a los científicos a recibir en el 2010 el Premio Nobel de Física. El grafeno es una de las láminas que forman el grafito pero de una manera aislada. Esta estructura puede tener una superficie de varios centímetros cuadrados con un espesor de un solo átomo de carbón.

En la Figura 4 se presenta de manera gráfica una línea del tiempo sobre la historia de las estructuras del carbón.

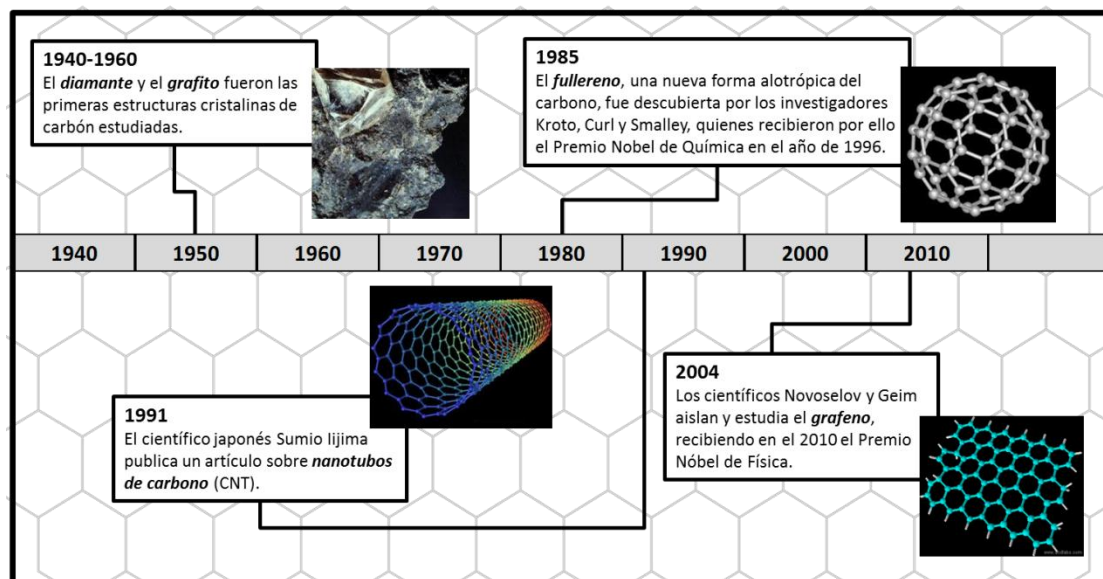


Figura 4. Línea del tiempo sobre el descubrimiento de las estructuras del carbón.

1.3.1 GRAFENO Y SUS DERIVADOS

Seguido al descubrimiento del grafeno, su estudio toma interés por poseer propiedades conductoras y térmicas que prometen aplicaciones industriales. Una gran parte de su estudio se centra en desarrollar nuevos métodos que permitan su obtención de una manera fácil y efectiva, en cantidades de interés industrial y con una buena calidad.

El primer método para obtener grafeno, y el que les permitió a Novoselov y Geim su descubrimiento, fue colocando una cinta adhesiva sobre grafito y retirándola posteriormente, logrando así una exfoliación mecánica [35]. Una forma diferente de realizar exfoliación mecánica es mediante el uso de ultrasonido, donde una suspensión de grafito se somete a una irradiación con ondas ultrasónicas para separar sus capas y así obtener grafeno. Otro método de producción del grafeno es el crecimiento epitaxial de las hojas de grafeno [36]. Este método consiste en calentar sólidos de Carburo de Silicio (SiC) para producir una grafitización parcial de la lámina superior [37]. La técnica de depósito químico (CVD) permite también el crecimiento de láminas de grafeno por descomposición de hidrocarburos [38].

A pesar de que se puede obtener grafeno por los métodos anteriormente mencionados, desde el punto de vista industrial, se estudian técnicas que minimicen los costos de obtención. Una técnica práctica para la obtención de grafeno es a partir de derivados del grafito, entre los que destaca el óxido de grafito. El óxido de grafito se obtiene cuando el polvo de grafito es expuesto a oxidantes fuertes tales como ácido sulfúrico, ácido nítrico, clorato de potasio o permanganato potásico. Estos introducen grupos funcionales portadores de oxígeno como los grupos hidroxilo, carboxilo, carbonilo y epoxi [39]. El óxido de grafito es exfoliado para obtener las capas de grafeno oxidadas u óxido de grafeno (GO). La exfoliación permite también que el GO pueda dispersarse en agua. La mejora en la procesabilidad del GO permite que sea incorporado en matrices poliméricas y su bajo costo de procesabilidad lo hace atractivo para aplicaciones industriales [40]. Posteriormente se puede llevar a cabo una reducción química o térmica para una recuperación parcial de la estructura del grafeno. Se ha demostrado que el calentamiento a sólo 200 °C comenzará la descomposición de los grupos funcionales que contienen oxígeno para formar grafeno térmicamente convertido, o también conocido como óxido de grafeno reducido (RGO) [41]. En la Figura 5 se puede observar el diseño de la estructura del grafeno, el óxido de grafeno y el óxido de grafeno reducido.

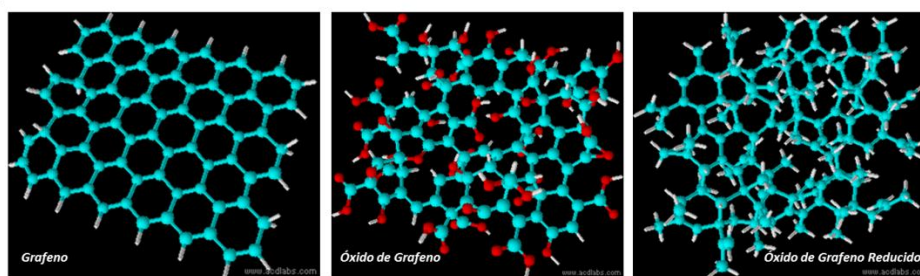


Figura 5. Diseño del grafeno, óxido de grafeno y óxido de grafeno reducido.

1.4 NANOCOMPOSITOS DE PANI CON NANOESTRUCTURAS DE CARBON

Los nanocompuestos basados en polímeros conductores y productos derivados del carbono, combinan las propiedades de ambos materiales dando como resultado

materiales con potenciales aplicaciones en ciencias biológicas [6], sensores [15], tecnologías de separación [17] y de almacenamiento de energía [18], entre otros. Entre los compuestos de polímeros conductores que se han estudiado recientemente se encuentran los compuestos de Polipirrol [42], Polietileno [43] y Politiofeno [44], por mencionar algunos. La combinación de PANI con nanomateriales de carbono también ha sido estudiada para mejorar sus propiedades eléctricas y mecánicas. Wu y colaboradores son algunos de los investigadores que han estudiado sobre compuestos de PANI con nanotubos de carbón de pared simple (SWNT) [45], en su trabajo concluyeron que la incorporación de los SWNT aumenta el área superficial electroquímicamente, la conductividad electrónica y facilita la transferencia de carga entre el polímero y la interface de los electrolitos. Trinh Tung y colaboradores estudiaron también sobre la formación de compuestos de PANI con hojas de grafeno, logrando que la conductividad eléctrica de los compuestos aumentara en un 5.0% en comparación con la de la PANI pura, así como también la estabilidad térmica en 100°C aproximadamente [46]. Existen otras investigaciones donde se estudia también el efecto de las diferentes vías para sintetizar los compuestos de PANI y el efecto que estas tienen sobre su estructura y sus propiedades finales.

A pesar de la investigación realizada, la preparación de nanocompuestos a base de polímeros conductores y derivados del grafeno está sujeta a gran estudio. Uno de los intereses de investigación es la reducción de residuos tóxicos generados por las reacciones de polimerización. Este trabajo propone un método de síntesis utilizando una enzima (HRP) como iniciador de la reacción en lugar de agentes químicos que pueden ser tóxicos.

1.5 HIPÓTESIS

La obtención de materiales nanocompuestos a base de polímeros conductores y derivados de grafeno es posible mediante la síntesis enzimática *in situ* utilizando peroxidasa de rábano como catalizador, sin detrimento en las propiedades físicas y características morfológicas de los materiales.

1.6 OBJETIVOS

1.6.1 OBJETIVO GENERAL

Sintetizar y caracterizar nanocompuestos de polianilina y óxido de grafeno mediante la síntesis enzimática *in situ* con peroxidasa de rábano picante.

1.6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Sintetizar y caracterizar óxido de grafeno y nanopartículas de óxido de grafeno.
2. Estudiar el efecto del GO y el nGO en la síntesis enzimática de la PANI.
3. Estudiar la formación de películas híbridas de GO/nGO y PANI mediante depósito *in-situ*.

Capítulo 2

DESARROLLO

EXPERIMENTAL

2.1 MATERIALES Y REACTIVOS

Persulfato de Potasio 99% grado reactivo ACS, Permanganato de Potasio 99% grado reactivo ACS, Ácido p-Toluensulfónico monohidratado (TSA) 98.5% grado reactivo ACS, Anilina al 99%, Hidróxido de Amonio al 28-30%, Pentóxido de Fosforo 97% reactivo, Membrana Celulosa para Diálisis con espesor de 33mm, Buffer pH=7±0.02, Bromuro de Potasio al ≥99% grado FTIR y Grafito en hojuelas fueron productos adquiridos en Sigma-Aldrich. La peroxidasa de Rábano (HRP) 150-250 U/mg fue comprada en Sigma-Life Science. El ácido etilendiamintetracético (EDTA) con una pureza ≥99.5% producido en Fulka Analytical. Cloruro de Sodio con 99.95% de pureza abastecido por J.T. Baker. Peróxido de Hidrógeno al 30% en peso en solución acuosa, obtenido en productos Fluka. Ácido Clorhídrico al 37%, que se consiguió por medio de Fermont. Ácido Sulfúrico 96.6% puro, del proveedor CTR Scientific.

2.2 MÉTODOS DE SÍNTESIS

La metodología seguida para la preparación de materiales se resume en el diagrama de la Figura 6.



Figura 6. Metodología para la preparación de materiales y su tipo de caracterización.

2.2.1 PREPARACIÓN DE ÓXIDO DE GRAFENO Y ÓXIDO DE GRAFENO NANOMÉTRICO

El GO fue sintetizado a partir de hojuelas de grafito siguiendo el método de Hummers reportado en 1985 por Journal of the American Chemical Society (Vol.80) con algunas modificaciones. Inicialmente se trató el grafito para poder lograr una oxidación completa. Se mezclaron 41.7 mL de H_2SO_4 en un matraz de 300 mL junto con 8.3 g de P_2O_5 . La solución se mantuvo en agitación a temperatura ambiente hasta que se disolvió completamente. Una vez disuelta la mezcla anterior se agregó el grafio bajo agitación y calentando a 90°C , utilizando un baño de aceite. Habiendo alcanzado la temperatura de 90°C y teniendo una mezcla homogénea, se agregaron 8.3 g de $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ lentamente para evitar derrames. Al terminar de agregar el $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ la solución se enfrió a 80°C y se dejó reaccionar durante 4 horas y media. Al transcurrir el tiempo de reacción se adicionaron 2 litros de agua desionizada lentamente y se dejó reposar durante toda la noche. Al día siguiente la mezcla se lavó y se filtro con ayuda de una bomba de vacío utilizando papel. El sólido resultante se secó en un vaso de precipitados durante toda la noche. El sólido seco se adicionó a un matraz Erlenmeyer de 2 L y se mantuvo a baja temperatura utilizando un baño de hielo. Para iniciar la oxidación se agregaron 383.3 mL de H_2SO_4 , la solución se mantuvo bajo agitación hasta que se alcanzó una temperatura de 0°C , la cual fue monitoreada por medio de un termómetro sumergido en el matraz. Posteriormente se agregaron 50 g de KMnO_4 lentamente observando que la temperatura no subiera por arriba de los 10°C . Una vez que se agregó todo el KMnO_4 se dejó agitar durante 10 min manteniendo la misma temperatura. Transcurridos los 10 min, la mezcla fue calentada a 35°C utilizando un baño de agua y se dejó reaccionar durante 2 hrs a esa temperatura. Transcurrido el tiempo, el matraz se colocó nuevamente en un baño de hielo. Una vez que la temperatura registrada fue menos a los 5°C se agregaron 766.6 mL de agua destilada empezando con alícuotas de 2 mL para que la temperatura no rebasara los 50°C . Se siguió monitoreando la temperatura después de cada alícuota para evitar un aumento brusco e ir aumentando la cantidad de

agua por alícuota cuando los asensos de temperatura fueran disminuyendo. Agregados los 766.6 mL de agua, la mezcla se dejó en agitación durante dos horas aún dentro del baño de hielo. Transcurridas las 2 hrs se cambió la mezcla a un matraz mas grande donde se siguió agitando para poder añadir 2.3 L de agua desionizada e inmediatamente después 41.66 mL de H_2O_2 al 30%. Se dejó agitar durante 15 min y posteriormente reposar durante un día. Después de haber reposado la solución, se decantó la parte sobrenadante de la muestra y el resto fue almacenado en recipientes de plástico de 2 L, de donde se fue lavando según las cantidades que fueran a ser utilizadas. Para obtener un material exfoliado, los recipientes de 2 L se colocaron durante 4 horas bajo ultrasonido.

La primer parte del GO a utilizar se lavó con por dos ciclos de centrifugado redispersado utilizando HCl al 10% en una centrífuga Allegra X22R de Beckman Coulter. Enseguida se prosiguió con el lavado de la solución con agua destilada hasta obtener una solución completamente neutra ($pH=7$). La centrífuga fue programada a 9000 rpm por una hora para los lavados anteriormente mencionados. Tanto la centrífuga como los materiales utilizados fueron lavados perfectamente teniendo cuidado por los residuos ácidos que se pudieran tener, el material de vidrio se enjuagó con H_2O_2 antes de ser lavados con detergente y agua. La Figura 7 muestra el resumen gráfico de la síntesis del GO.

Una vez neutralizado el GO se colocó en una membrana de diálisis en agua desionizada. Diariamente se midió la conductividad del agua resultante de la diálisis y se cambiaba hasta que la conductividad del agua de la diálisis y el agua desionizada fueran iguales.

Para obtener el nGO se colocaron aproximadamente 35 mL de GO en viales de plástico de 50 mL y se introdujeron en un vaso de precipitados con agua para colocarlos en ultrasonido durante 16 horas. Para comprobar que se obtuvo el nGO se tomó una muestra para ser vista en el microscopio electrónico de barrido y se midió el tamaño promedio de las partículas utilizando el analizador de imagen ImageJ. Se midieron 200 partículas, las necesarias para poder hacer un promedio de las dimensiones y calcular el área de la hoja.

Para el cálculo del contenido de GO y nGO en la dispersión se colocaron 3 mL de cada solución en viales de vidrio pesados previamente. Las soluciones fueron secadas en un horno a 50°C para evaporar el agua y así obtener solo el contenido sólido del GO y nGO. Teniendo el material seco se realizaron los cálculos para obtener la concentración que se tenía en las soluciones de GO y nGO.

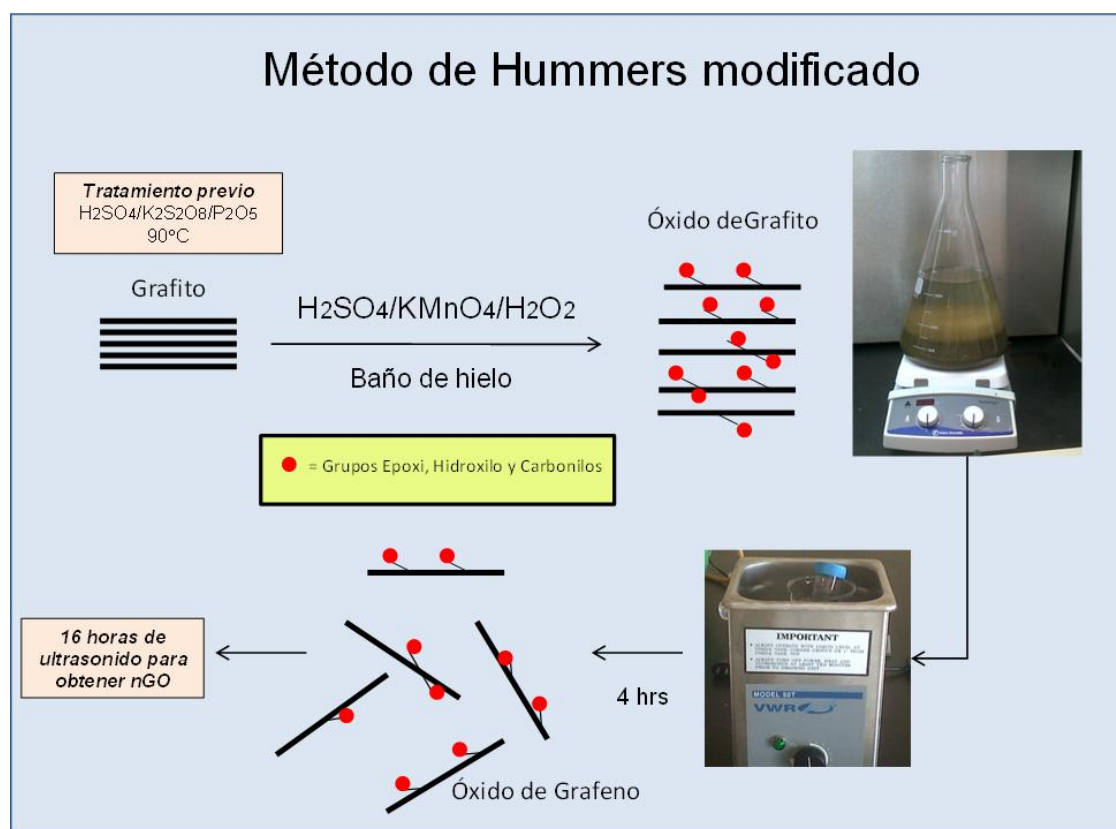


Figura 7. Diagrama del procedimiento para la síntesis del Óxido de Grafeno por medio del método de Hummers modificado.

2.2.2 SÍNTESIS DE POLIANILINA VÍA ENZIMÁTICA

Como primer paso se preparó el material de trabajo y se acondicionó el área para realizar la reacción de polimerización. La síntesis se llevo a cabo en un reactor de tres bocas con entrada de flujo de agua para controlar la temperatura (Figura 8). En una de las bocas se colocó un tapón de hule con una manguera para la entrada de nitrógeno que generó una atmosfera inerte en el reactor, otra de las bocas sirvió como salida del nitrógeno con un tapón de vidrio conectado a una manguera, esta manguera se colocó en un vaso de precipitado con agua para verificar la presencia de nitrógeno en el reactor al burbujear este en el agua. La boca central del reactor fue por la que se introdujeron los reactivos necesarios para la síntesis. El reactor fue conectado a un baño de agua para controlar la temperatura de la reacción.

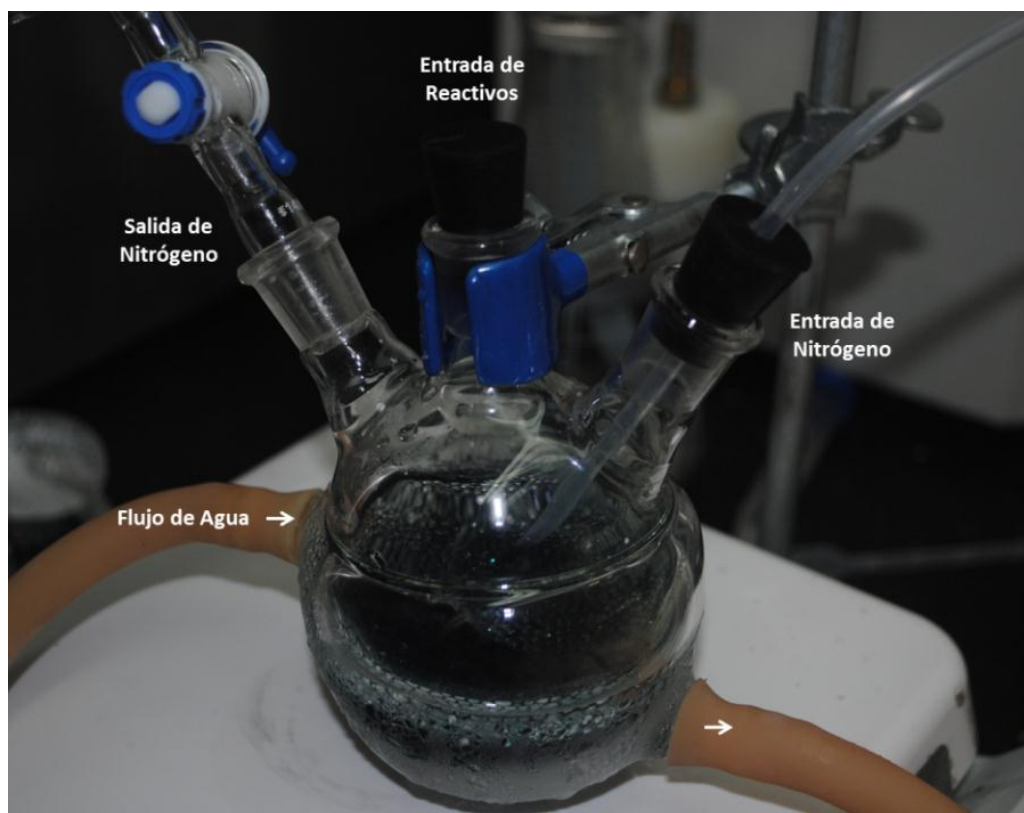


Figura 8. Montaje del Reactor donde se lleva a cabo la Síntesis de PANI y sus Compuestos

Para iniciar la reacción se pesaron en una balanza analítica 456 mg de TSA, se colocó en el reactor junto con 20 mL de agua desionizada y 215 μ L de anilina. Al trabajar con la anilina se utilizaron guantes y lentes para evitar cualquier tipo de contacto con la piel.

La mezcla anterior se dejó en agitación durante 20 minutos a una temperatura de 5 °C. Mientras se agitaban los primeros reactivos, se preparó una solución de HRP al 1.2% pesando 12 mg de la enzima y diluyéndola en 10 mL de Buffer pH=7, esta solución se mantuvo en refrigeración mientras no se utilizaba para conservar la actividad de la enzima. Durante el tiempo de agitación también se preparó una solución de H_2O_2 al 3.75% diluyendo 1.25 mL de H_2O_2 al 30% en 10 mL de agua desionizada.

Una vez transcurridos los 20 minutos se agregaron 2 mL de la enzima diluida al 1.2% utilizando una jeringa, la adición se hizo por la boca central del reactor.

Inmediatamente después se inició la adición de 2 mL de peróxido al 3.75% utilizando una bomba de inyección con una jeringa conectada a una manguera flexible para conducir el fluido hacia el reactor. La bomba de inyección fue programada para realizar la inyección completa en un lapso de 1 hr. Para evitar la inhibición de la enzima, la primera alícuota de peróxido se realizó manualmente y posteriormente se dejó funcionar la bomba.

Terminada la adición del peróxido la solución se dejó en agitación durante dos horas para que la reacción ocurriera completamente.

Finalizado el tiempo de reacción se colocó la solución resultante en una membrana para ser sometida a diálisis y eliminar los residuos ácidos que pudieran haber quedado. La diálisis tomó aproximadamente 3 días, durante estos 3 días el agua de la diálisis fue cambiada diariamente midiendo su conductividad hasta que fuera igual a la del agua neutra, lo cual es un indicador de que la muestra está libre de residuos ácidos.

Al concluir la diálisis se almacenó la PANI resultante en viales de plástico para ser utilizado en futuras pruebas de caracterización.

Todo el material utilizado fue enjuagado con agua destilada y se eliminaron los residuos en el contenedor de ácidos por la presencia del TSA.

Se realizó una reacción de polimerización similar a la descrita anteriormente pero sin utilizar TSA como agente dopante, esto para analizar el efecto del medio ácido en la síntesis.

2.2.3 SÍNTESIS DE COMPUESTOS DE POLIANILINA CON ÓXIDO DE GRAFENO Y DE POLIANILINA CON ÓXIDO DE GRAFENO NANOMÉTRICO VÍA ENZIMÁTICA.

Se realizaron 3 reacciones de polimerización de los compuestos PANI_GO y 3 reacciones para PANI_nGO.

La reacción se llevó a cabo de forma similar que la síntesis 2.2.2, solo que antes de agregar la enzima se añadió la cantidad necesaria de GO y nGO dependiendo del compuesto a preparar (Tabla 1). Una vez añadido el GO y nGO, se aumentó la velocidad

de agitación y se dejó agitando durante 10 min antes de añadir los 2 mL de la enzima diluida al 1.2%. La adición de la enzima se hace por la boca central del reactor utilizando una jeringa e inmediatamente después se hace la adición de 2 mL de peróxido al 3.75% utilizando una bomba de inyección programada a 2 mL/hr, al igual que en la síntesis 2.2.2, la primera alícuota de peróxido se hace manualmente.

Tabla 1. Por ciento en peso del GO o nGO en los compuestos con PANI y los mililitros de solución correspondiente teniendo una concentración de GO y nGO = 2.1 mg/mL.

Identificación del compuesto	% en peso de GO/nGO	Mililitros agregados
PANI_GO1	1.0%	1.0ml
PANI_GO2.5	2.5%	2.6ml
PANI_GO5	5.0%	5.2ml
PANI_nGO1	1.0%	1.0ml
PANI_nGO2.5	2.5%	2.6ml
PANI_nGO5	5.0%	5.2ml

Terminada la adición del peróxido, la solución se dejó en agitación durante dos horas para que la reacción ocurriera completamente.

Finalizado el tiempo de reacción se procedió a dializar la solución resultante de igual forma que en la síntesis 2.2.2.

Al concluir la diálisis se almacenaron los compuestos resultantes en viales de plástico para ser utilizado en futuras pruebas de caracterización.

Todo el material utilizado fue enjuagado con agua destilada y se eliminaron los residuos en el contenedor de ácidos por la presencia del TSA.

2.2.4 PREPARACIÓN DE PELÍCULAS DE POLIANILINA *IN-SITU* SOBRE CRISTALES DE CUARZO RECUBIERTOS CON ORO

Para estos experimentos se utilizó el siguiente material de laboratorio. Un vaso de precipitado de 100 mL fue el reactor donde se llevó a cabo la síntesis, en este reactor se introdujo un cristal de cuarzo recubierto con oro (sustrato para deposito de PANI) adaptado a una balanza QCM200 Quartz Crystal de Stanford Research Systems.

En la Figura 9 se puede ver el cristal de cuarzo, así como un esquema de la forma en la que debe de ser colocado en la balanza para que los contactos de oro del cristal y los contactos de la balanza queden en la misma posición.

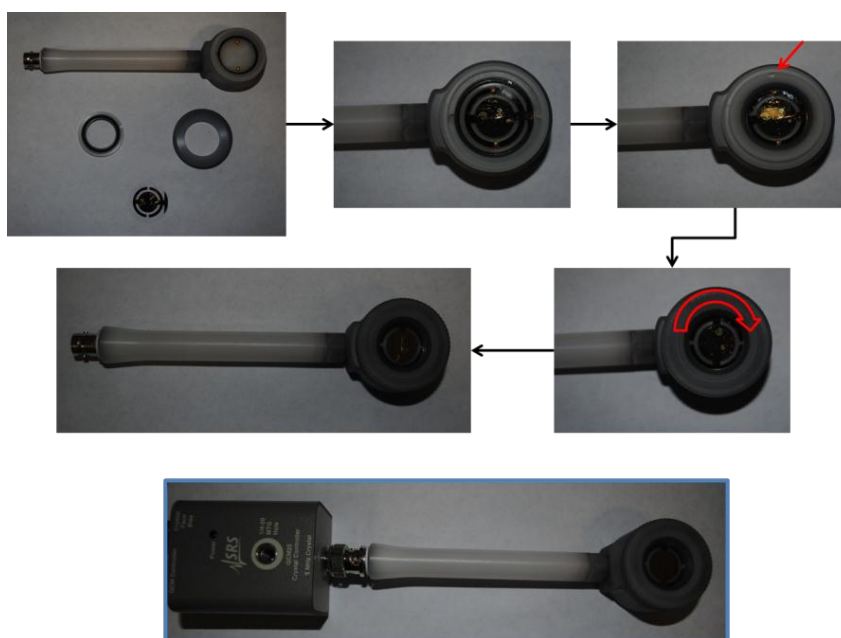


Figura 9. Pasos para colocar el cristal de cuarzo recubierto con oro en la balanza.

El depósito de la PANI sobre el cristal fue monitoreado mediante la técnica de potencial de circuito abierto utilizando un Potenciostato/Galvanostato/Potenciométrico EPSILON BAS e2P-231100. El sistema se monto de manera que el electrodo de trabajo fue conectado a una interface en la balanza de cristal de cuarzo. Se utilizo un electrodo de referencia AgCl/Cl el cual se colocó en una solución de NaCl 1M conectado al reactor mediante un puente salino para el monitoreo de la reacción.

El uso de un soporte y varias pinzas fue necesario para sostener algunas partes del montaje, así como también se utilizó una plancha sobre la cual se colocaron tanto el reactor como el vaso que contenía el NaCl 1M para poder mantener la solución bajo agitación. Finalmente el sistema quedó montado como se muestra en la Figura 10.

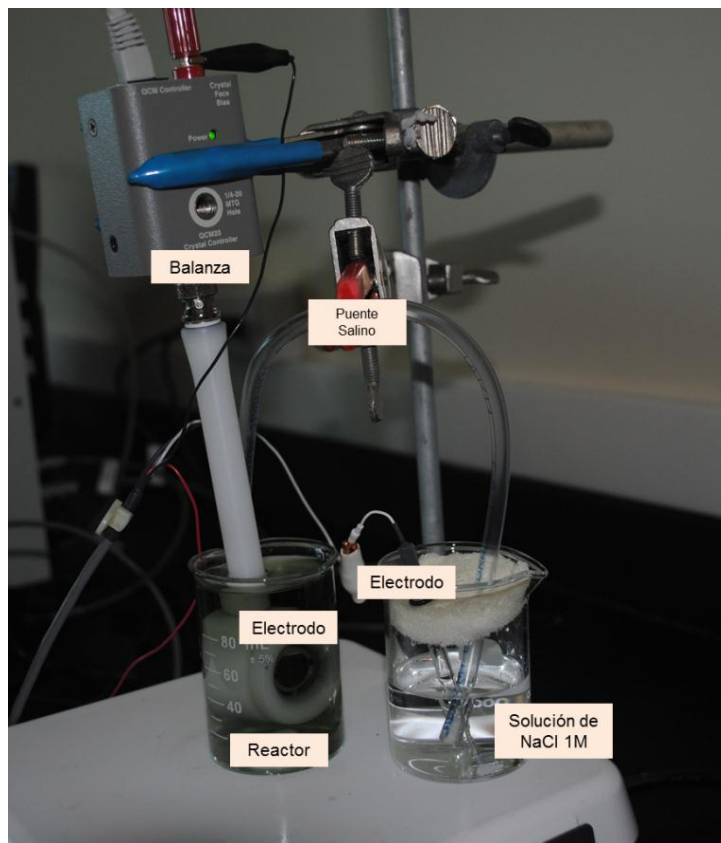


Figura 10. Montaje del reactor de la síntesis para preparación de películas in-situ conectado con un puente de salino a una solución de NaCl con electrodo de referencia.

Una vez montado el equipo de trabajo se abrieron los programas de la balanza y del potencióstato para programar los parámetros que se utilizarían durante el monitoreo de la reacción. Para la balanza se utilizó el programa Srsqcm200 programado a un intervalo de adquisición de datos de 10 segundos. Por otro lado, para obtener el potencial de circuito abierto, el equipo cuenta con el programa BASiEpsilon-EC y se alimentaron los siguientes parámetros:

Tiempo del experimento 60 min

Ventana de tiempo de adquisición 0.1 seg

Intervalo potencial +/- 1 V

Una vez alimentados los datos a los programas se pesaron 1.368 g de TSA y 28 mg de EDTA, los cuales fueron mezclados con 60 mL de agua desionizada y 645 μ L de anilina, esta mezcla se dejó agitar durante 20 minutos.

Mientras transcurrían los 20 minutos de agitación se preparó una solución de la enzima HRP al 1.2% y otra de H_2O_2 al 3.75% que serían utilizadas más adelante en la reacción.

Terminados los 20 minutos de agitación se inicial los programas de la balanza y del potencióstato tratando de que haya la mínima diferencia entre el tiempo de arranque de cada uno. La solución se deja agitando durante 5 minutos más para que los programas registren la parte inicial de la reacción.

Transcurridos los primeros 5 minutos monitoreados por los programas se agregan 6 mL de la solución de HRP al 1.2% e inmediatamente después se agregan alícuotas de 0.5

mL de H₂O₂ al 3.75% cada 2 minutos de forma manual con una jeringa hasta completar 6mL.

Se dejó reaccionar hasta completar 1 hr de registro de mediciones tanto en el programa de la balanza como en el del potencióstato. Se obtuvieron las curvas que registran la evolución de la OCP durante la polimerización enzimática, junto con la respuesta gravimétrica y el cambio en la resistencia del cristal de cuarzo en función del tiempo.

Al finalizar la corrida de los programas se detuvo la agitación y se quitó la balanza del vaso de precipitados. Cuidadosamente se extrajo el cristal de la balanza colocándolo en una caja Petri para que se secase. Una vez seco el cristal se rocía con agua desionizada para eliminar lo mas que se pueda de restos de ácido. El cristal fue almacenado para su futura caracterización.

2.2.5 PREPARACIÓN DE PELÍCULAS DE COMPUESTOS DE POLIANILINA CON ÓXIDO DE GRAFENO Y DE POLIANILINA CON ÓXIDO DE GRAFENO NANOMÉTRICO *IN-SITU* SOBRE CRISTALES DE CUARZO RECUBIERTOS CON ORO

Para la obtención de películas de PANI_GO y PANI_nGO se llevo a cabo bajo el mismo procedimiento que la preparación de películas de PANI descrito en la sección V.2.4.1. Antes de la adición de la enzima se agregaron 3 mL de la dispersión de GO o nGO con una jeringa. Esta mezcla se deja agitando durante 5-10 minutos hasta lograr que la solución quede homogénea. Se decidió hacer la adición del GO y nGO antes de correr los programas debido a la turbidez que se forma en la solución al ser agregados. Al tener una solución homogénea, los resultados de la balanza y del potencióstato muestran menos ruido en sus gráficas.

Una vez que la solución en el reactor es homogénea, o lo más homogénea posible, se inician los programas de la balanza y del potencióstato tratando de que haya la mínima diferencia entre el tiempo de arranque de cada uno.

La solución se deja agitando durante 15-20 minutos más para que los programas registren la parte inicial de la reacción. Transcurridos los primeros 15-20 minutos monitoreados por los programas se procede a añadir los reactivos para que se lleve a cabo la reacción, tal como se realiza en la preparación de películas 2.2.4.1.

Se dejó reaccionar hasta completar 1 hr de registro de mediciones tanto en el programa de la balanza como en el del potencióstato.

Al finalizar la corrida de los programas se detuvo la agitación y se quitó la balanza del vaso de precipitados. Cuidadosamente se extrajo el cristal de la balanza colocándolo en una caja Petri para que se seque. Una vez seco el cristal se rocía con agua desionizada para eliminar lo más que se pueda de restos de ácido. El cristal fue almacenado para su futura caracterización mientras que la solución del reactor se almacenó en viales de plástico.

2.3 CARACTERIZACIÓN

2.3.1 MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)

Todas las muestras obtenidas de PANI y compósitos, así como el GO y el nGO, se analizaron mediante Microscopía Electrónica de Barrido en un equipo marca FEI modelo

Nova Nano SEM 200. Las muestras fueron observadas a un voltaje de aceleración que vario entre 2 y 5 KV y a una distancia de trabajo de 5 mm. Las muestras fueron preparadas colocando gotas de dispersión diluida sobre sustratos de silicio completamente limpios y dejándolos secar antes de observar en el SEM. Por otro lado, en el caso de las películas de PANI, PANI_GO y PANI_nGO se observaron los cristales tal como se obtuvieron después de las reacciones. Ninguna muestra fue recubierta por algún material conductor.

2.3.2 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE TRANSMICIÓN (TEM)

Se obtuvieron imágenes de microscopía electrónica de transmisión para el GO, nGO, PANI, PANI_GO2.5 y PANI_nGO2.5 utilizando un microscopio marca FEI modelo Titan G280300. La preparación de las muestras consistió en colocar una gota de una dispersión diluida de la muestra sobre una rejilla de cobre recubierta con una película discontinua de silicio, la cual sirve como soporte para un mejor acomodo de las dispersiones. Las muestras fueron observadas a un voltaje de aceleración de 300 kV y se adquirieron imágenes en campo claro y patrones de difracción de electrones de área selecta. Las imágenes fueron analizadas utilizando el software Digital Micrograph GATAN.

2.3.3 ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA-VISIBLE (UV-Vis)

Los espectros de UV-Vis fueron obtenidos en un Espectrofotómetro UV-Vis Lambda 35 Perkin Elmer, en unidades de absorción. Para la caracterización de los coloides obtenidos en los métodos 2.2.2 y 2.2.3 se prepararon dispersiones diluidas en agua desionizada, ácido clorhídrico (1.0 N) e hidróxido de amonio (1.0 M). Para los espectros se utilizó un intervalo de longitud de onda de 200 a 900nm con un ancho de emisión de 2 nm y una velocidad de barrido de 480 nm/min.

2.3.4 ESPECTROSCOPÍA DE INFRARROJO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

Los espectros de infrarrojo mediante transformada de Fourier fueron adquiridos utilizando un Espectrofotómetro FTIR Nicolet 6700 en el modo de transmisión usando pastillas de KBr. Para la preparación de las pastillas se prepararon mezclas en viales de plástico de 2mL que contenían 30 mg de KBr, 50 μ L de las dispersiones a caracterizar y 1.5 mL de agua desionizada. Las mezclas anteriores fueron agitadas perfectamente y después colocadas en un horno a una temperatura de 50°C durante 24 horas para obtener un polvo perfectamente seco. El material seco se molió para formar una mezcla homogénea y posteriormente formar una pastilla con la ayuda de una prensa manual. Los espectros fueron adquiridos tomando como promedio 32 barridos con una resolución de 4 cm^{-1} en un intervalo de los 400 cm^{-1} a 4000 cm^{-1} .

2.3.5 ESPECTROSCOPÍA FOTOELECTRÓNICA DE RAYOS X (XPS)

El análisis por espectroscopia de Rayos X (XPS) se realizó utilizando la línea Al K (alfa) en un Axis-Ultra, Kratos, UK. La cámara de análisis de XPS se operó a 10^{-9} Torr. Las muestras fueron conectadas a tierra y un cañón de electrones se utilizó para evitar la carga durante las mediciones. Las muestras fueron depositadas en forma de polvo en cinta de carbón conductor y fueron referenciadas al pico C1s sp² a 284.5 eV.

2.3.6 ESPECTROSCOPÍA DE RAMAN

Los espectros de Raman se obtuvieron con un equipo Renishaw inVia Raman con dos diferentes laser. Para el análisis del GO y del nGO se utilizó un laser 514nm y los espectros se corrieron de 1000 a 2000 desplazamientos Raman (cm^{-1}), mientras que la PANI y los nanocompuestos PANI_GO/nGO se corrieron con laser 785nm y en un rango de desplazamiento Raman de 200 a 2000 cm^{-1} . La línea base de los espectros de Raman

fue sustraída de la señal y se uso un algoritmo de promedios vecinales para disminuir el ruido.

2.3.7 ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO (TGA)

Los análisis termogravimétricos fueron realizados en un equipo Rigaku TGA/DTA 8120 a una velocidad de calentamiento de 10 °C/min con un flujo de 300 mL/min de aire. Se probó con 1-2 mg de muestra de cada material a analizar.

2.3.8 VOLTAMETRÍA CÍCLICA

La caracterización de voltametría cíclica se realizó para los cristales de cuarzo donde se obtuvieron películas de PANI y DE PANI_GO/nGO. Los cristales se introdujeron en una solución 0.2 N de HCl utilizando un electrodo de referencia Ag/AgCl y un alambre de platino como contra electrodo a una velocidad de barrido de 20 mV/s de 0 a 800 mV en 8 ciclos. Simultaneamente se obtuvo la curva de frecuencia utilizando la balanza QCM200 a 1.0 Hz, el cambio de frecuencia se convierte en valores gravimétricos utilizando la ecuación de Sauerbrey y las constantes proporcionadas por el fabricante del cristal.

Capítulo 3

RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1 OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL ÓXIDO DE GRAFENO Y ÓXIDO DE GRAFENO NANOMÉTRICO

La estabilidad coloidal de las dispersiones acuosas de GO y nGO fue estudiada observando viales con estas dispersiones a diferentes pHs por el transcurso de varios días. En la Figura 11 se presentan las dispersiones en medio acuoso (pH = 7) del GO y nGO obtenido después del tratamiento de ultrasonido, así como su estabilidad a diferentes pHs. Las soluciones del GO a pH básico presentan un color más oscuro, lo que pudiera indicar que el GO se está reduciendo químicamente, ya que la reducción de GO en medio alcalino incluso a baja temperatura ha sido reportada [47]. Este comportamiento es similar en el nGO, donde se puede observar que en la solución a pH=10 los aglomerados precipitan perdiendo así la estabilidad de la solución, mientras que a pH=4 y pH=7 son más estables. La reducción del GO conlleva la pérdida de grupos funcionales que le proveen estabilidad coloidal. Estos resultados sugieren que el GO es inestable químicamente en medio básico debido a una lenta reducción, que ocasiona la pérdida de la estabilización electrostática y este efecto es más evidente en la muestra tratada con ultrasonido. Esto puede deberse a que los grupos funcionales en los bordes son más reactivos y en la muestra del nGO los bordes son relativamente más abundantes.

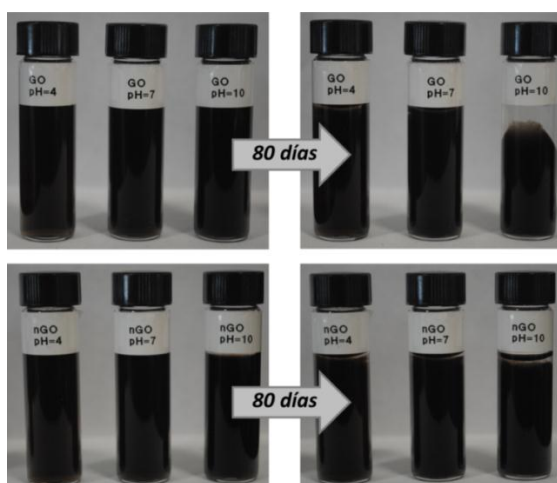


Figura 11. Estabilidad coloidal después de 80 días de disoluciones de GO y nGO a pH=4, pH=7 y pH=10.

En la Figura 12 se presentan las micrografías de SEM del GO y nGO. Se puede observar claramente la diferencia de tamaño entre estos. La muestra de GO presenta una alta exfoliación, evidenciado por la transparencia de las hojas y por la ausencia de aglomerados en la imagen (Figura 12a). Además se observa que las hojas tienen tamaño y forma heterogénea. La Figura 12b muestra que el nGO presenta un tamaño de partícula mucho más pequeño que en el caso del GO. En la muestra de GO se midieron hojas de hasta 12.50 μm de distancia lateral, mientras que para el nGO se obtuvo una distancia lateral promedio de 248 nm utilizando el programa ImageJ para la medición del tamaño de partícula. También podemos observar una mayor uniformidad en el tamaño de partícula para el nGO. De ambas muestras se puede decir que las disoluciones con que se preparan presentan una buena dispersión, ya que al momento de secar no existe aglomeración entre las hojas y el sustrato se encuentra completamente recubierto.

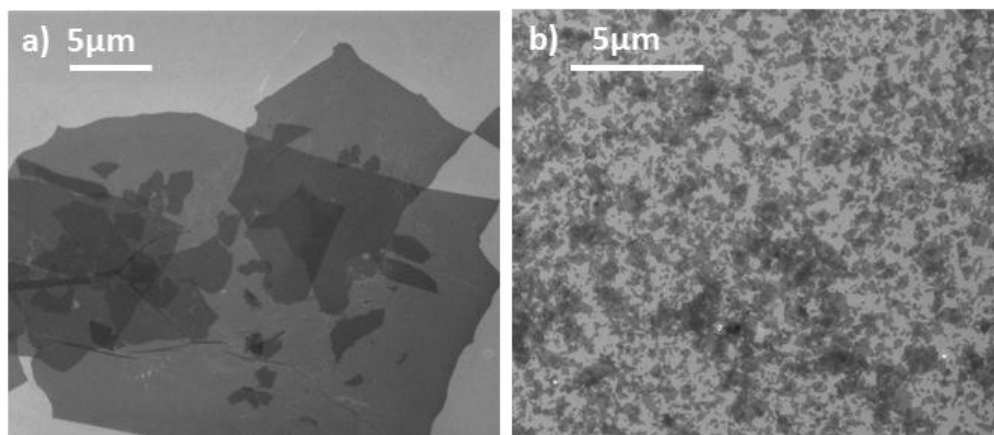


Figura 12. Micrografías de SEM de a)GO y b)nGO sobre sustrato de silicio .

Las muestras fueron analizadas posteriormente mediante microscopía electrónica de transmisión y las imágenes se muestran en las Figuras 13a y 13b. En ambos casos se observa una película de carbón, la cual se encuentra con pliegues al tener un tamaño mayor (GO) y extendida cuando la hojas es más pequeña (nGO). Por otro lado, las

Figuras 13c y 13d muestran las imágenes adquiridas a alta resolución y permiten analizar la estructura del GO y el nGO. Tanto el GO como el nGO presentan dos anillos de difracción correspondientes a los planos cristalinos del grafeno ($0\bar{1}10$) y ($1\bar{2}10$) con una distancia interplanar de 0.21 nm y 0.12 nm respectivamente [48].

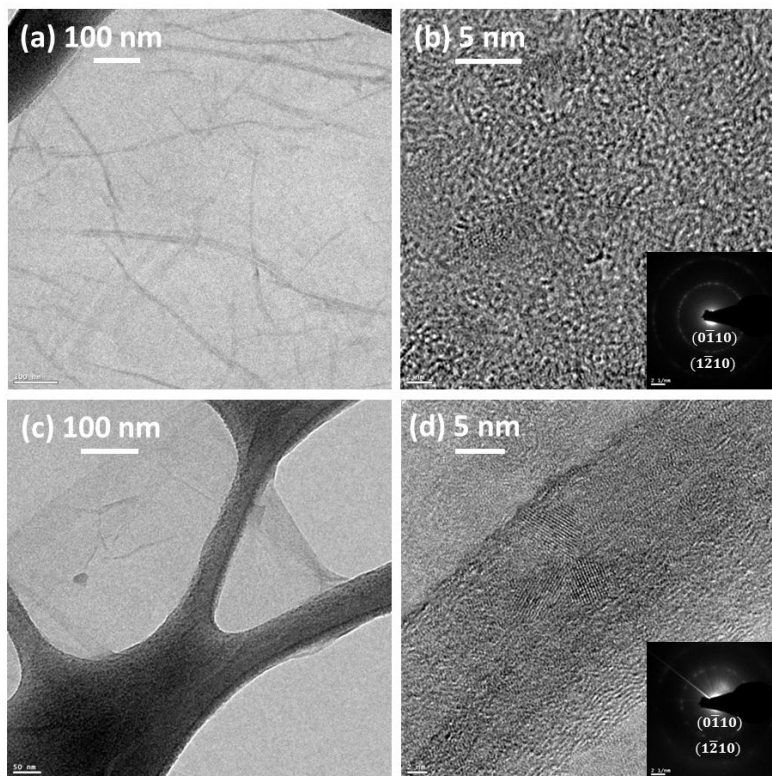


Figura 13. Micrografías de TEM de soluciones acuosas de (a y b) GO y (c y d) nGO, montado sobre una rejilla de cobre recubierta con una película discontinua de silicio.

Se llevó a cabo la caracterización estructural mediante espectroscopía UV-Vis y espectroscopía FTIR y espectroscopía XPS. Los espectros de UV-Vis del GO y nGO a diferentes condiciones de pH (4, 7, 10) se presentan en la Figura 14. Para los tres casos, los espectros muestran dos bandas de absorción características del GO no reducido, una a 230 nm y otra a 340nm, bandas corresponden a la transición π - π^* y n - π respectivamente [3-49]. Estos resultados permiten además comparar la estabilidad del GO y el nGO en diferentes medios. Analizando la desviación de la línea base se observa

que tanto el GO como el nGO tienden a formar aglomerados en medio básico y neutro, sin embargo, a pH ácido, la desviación de la línea base es mas evidente en la dispersión de GO que en el nGO lo que sugiere un aumento en la estabilidad coloidal del nGO debido a la disminución en el tamaño de la hoja y a la estabilidad electrostática en este medio.

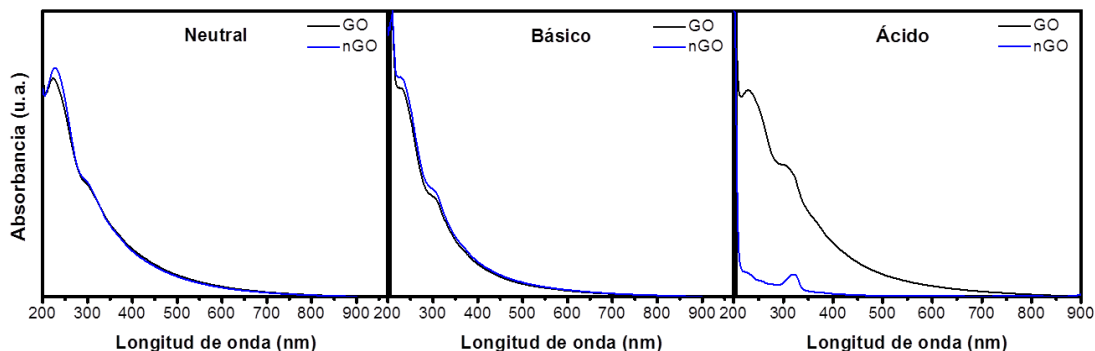


Figura 14. Espectros de UV-Vis de GO y nGO en medio a) neutro, b) ácido y c) básico.

Las muestras fueron analizadas mediante espectroscopia de infrarrojo (FTIR) para identificar cualquier diferencia entre la estructura del GO y del nGO (Figura 15). Los espectros en general presentan las bandas características de la estructura del óxido de grafito, una banda alrededor de 1633 cm^{-1} la cual corresponde a la vibración de estiramiento del enlace C=C, otra banda a 1100 cm^{-1} que corresponde a la vibración característica de los grupos éter, además de las bandas asociadas a la vibración de estiramiento y de flexión del enlace O-H entre $3000 - 3500\text{ cm}^{-1}$ y a 1400 cm^{-1} respectivamente. También se observan dos bandas a 1365 cm^{-1} correspondiente al enlace C-OH, 1246 cm^{-1} del enlace C-O-C, 1065 cm^{-1} por la vibración de estiramiento del enlace C-O y a 2960 cm^{-1} para la vibración del enlace C-H [49]. Los resultados muestran que las estructuras del GO y nGO no presentan gran cambio por consecuencia del ultrasonido, solo se puede observar un pequeño incremento de la banda OH debido a la posible reducción del grupo aldehído a alcohol.

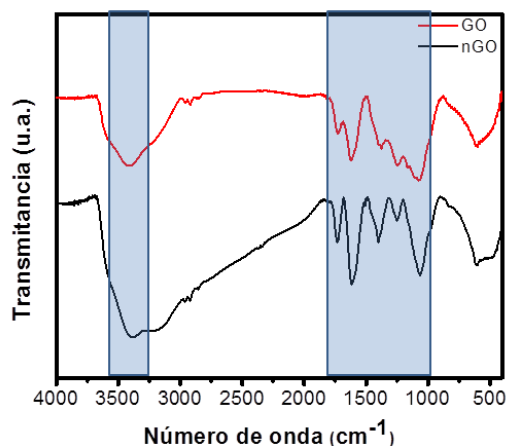


Figura 15. Espectros de FTIR de GO y nGO.

La Figura 16 muestra los espectros de baja resolución obtenidos del análisis hecho por XPS de las muestras de GO y nGO. En ambas muestras se observa que la principal composición es a base de oxígeno y carbón debido a los picos de fotoemisión correspondiente al O 1s alrededor de los 550 eV de energía de enlace y del C 1s entre 280-290 eV aproximadamente.

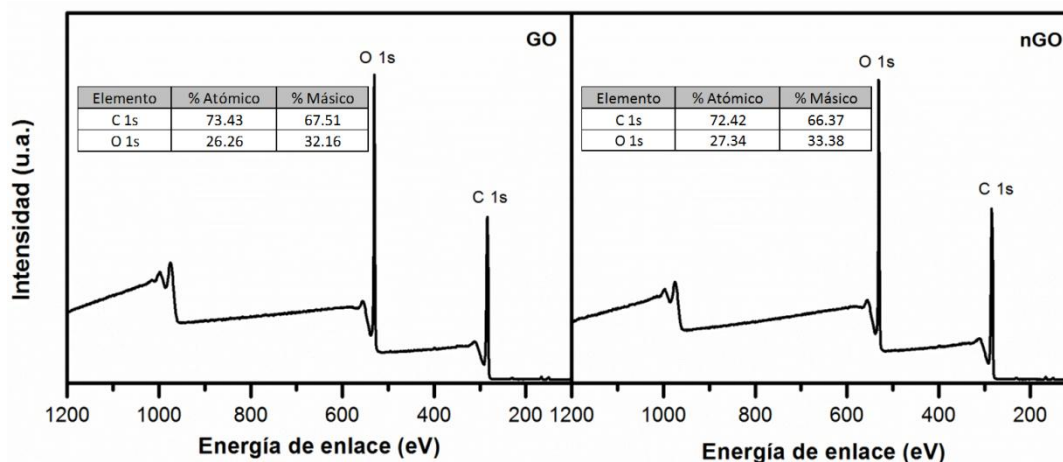


Figura 16. Espectros de XPS de baja resolución para las muestras de GO (derecha) y nGO (izquierda). Las tablas inset muestran la composición atómica calculada semicuantitativamente de los picos C1s y O1s mostrados.

Para el estudio de la influencia del GO y nGO en los compuestos formados con la PANI, los análisis de XPS se enfocaron en un espectro de alta resolución del C 1s. La deconvolución del C1s para el GO y nGO se muestra en la Figura 17. Se pueden observar tres señales, la primera corresponde a los enlaces C-C y C-H (284.6 eV), una segunda señal con mayor intensidad se observa a 286.5 eV y corresponde a enlaces C-O-H y C-O-C, finalmente, con una energía de enlace de 288 eV, se tiene una tercer señal que corresponde al grupo carbonilo C=O [50]. Estos resultados son consistentes con lo observado por el análisis de FTIR e indican claramente la estructura oxidada del GO, en donde las especies de carbón oxidadas tienen una contribución mayor en el pico de fotoemisión de alta resolución que las especies de carbón en la estructura del grafeno.

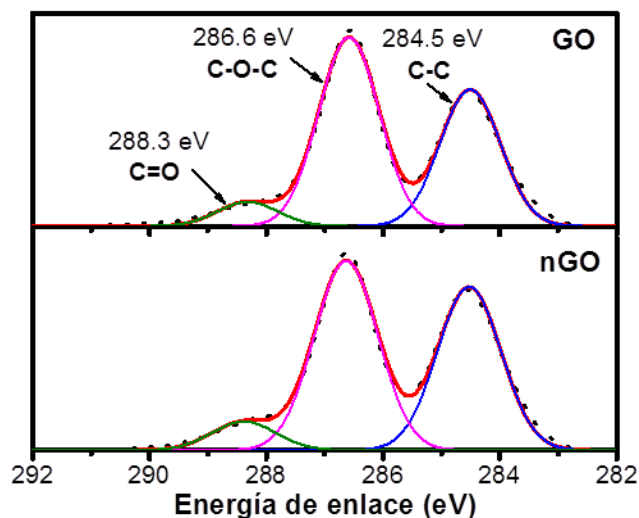


Figura 17. Deconvolución del C1s para las muestras de GO y nGO.

La espectroscopía de Raman fue utilizada también para estudiar la estructura del GO y nGO, los espectros correspondientes se muestran en la Figura 18. En ambos casos se observan dos bandas a 1350 y 1602 cm^{-1} que corresponden a los modos D y G respectivamente [51]. El modo G corresponde a la vibración de la hibridación sp^2 del carbón, mientras que el modo D corresponde a la conversión de la hibridación sp^2 a sp^3 del carbón. El calculo de la relación entre la intensidad de las bandas (I_D/I_G) es característico del grado de desorden que presenta el material [52]. La relación I_D/I_G para

el GO y nGO es 0.84 y 0.96 respectivamente, lo que indica que el desorden es mayor en el nGO, muy probablemente haya sido originado por el rompimiento de las hojas del GO de tamaño normal, ya que el GO nanométrico presenta más grupos funcionales por poseer un mayor número de bordes.

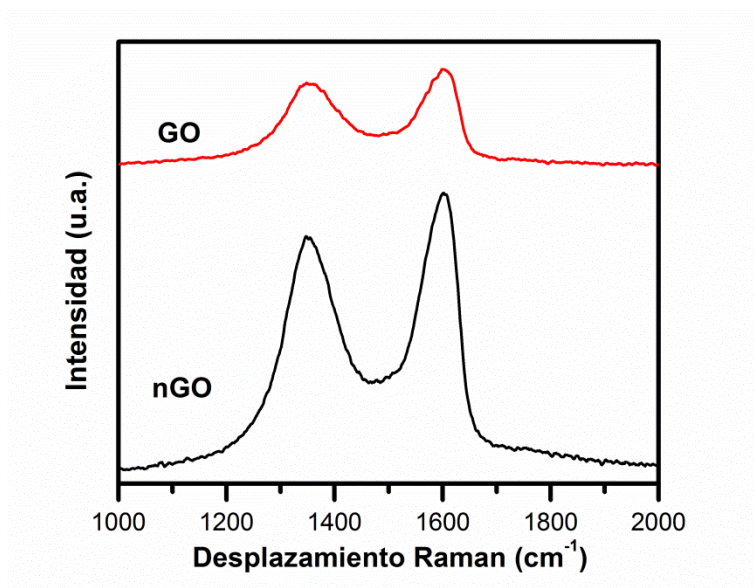


Figura 18. Espectros de Raman del GO y nGO, modificados con línea base y algoritmo de promedios vecinales para disminuir el ruido.

La Figura 19 muestra las curvas de pérdida de peso en función de la temperatura (TGA) de las muestras de GO y nGO en color negro y rojo respectivamente. La pérdida de masa a temperaturas inferiores a 100 °C (~ 15%) es típicamente debida a la adsorción física de agua dentro de los poros del material [46]. Una pérdida de masa importante (~ 30%) se produce alrededor de los 200 °C, la cual es atribuida a la descomposición de oxígenos débiles que contienen grupos funcionales, produciendo CO, CO₂ y vapor de agua [53-54]. Por otro lado, la pérdida constante observada para temperaturas entre los 200 °C y 450 °C, que asciende a ~ 20%, se atribuye a la liberación de oxígenos funcionales más estables [54]. Las muestras de GO y nGO pierden su estabilidad térmica en aire aproximadamente a los 450 °C, ocurriendo la oxidación de ambas muestras

hasta la pérdida total de la masa. El comportamiento térmico es similar para ambos casos. Lo que sugiere que este comportamiento no es fuertemente influenciado por pequeños cambios estructurales observados por los análisis de Raman.

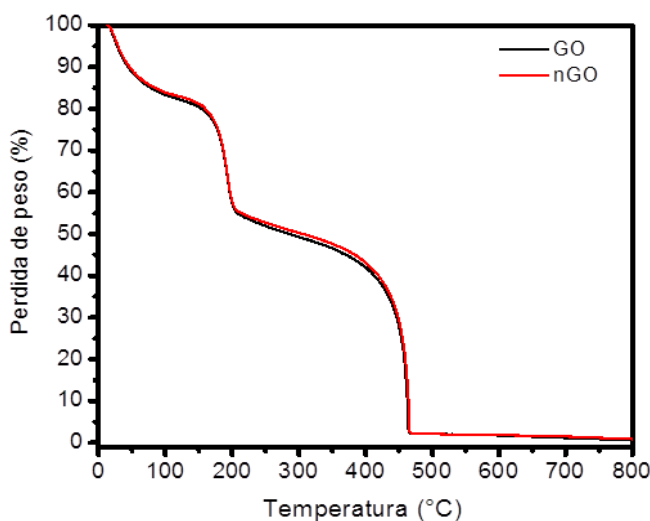


Figura 19. Análisis de TGA para las muestras de GO y nGO.

3.2 SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPUESTOS DE POLIANILINA CON ÓXIDO DE GRAFENO Y DE POLIANILINA CON ÓXIDO DE GRAFENO NANOMÉTRICO VÍA ENZIMÁTICA

Durante la reacción de polimerización enzimática de la PANI, la mezcla de reacción presentó un cambio de color al adicionar la enzima/peróxido a color morado correspondiente al inicio de la reacción y posteriormente fue cambiando a color azul oscuro casi negro, indicador de que se obtuvo emeraldina base. Este cambio de coloración se presentó también en la preparación de los compósitos, lo que indica que la actividad de la enzima no fue modificada por la presencia del GO y nGO en la mezcla de reacción, ya que cuando la reacción se llega a inhibir por presencia de algún contaminante o alguna sustancia extraña a la mezcla de reacción, la solución no cambia de color al adicionar enzima/peróxido o cambia a un color azul tenue.

Para determinar la estabilidad coloidal de las dispersiones de los nanocompuestos de PANI_GO y PANI_nGO, se prepararon dispersiones en diferente medio, neutro, ácido y básico. La Figura 20 muestra las fotografías que se tomaron a los viales en esas condiciones.

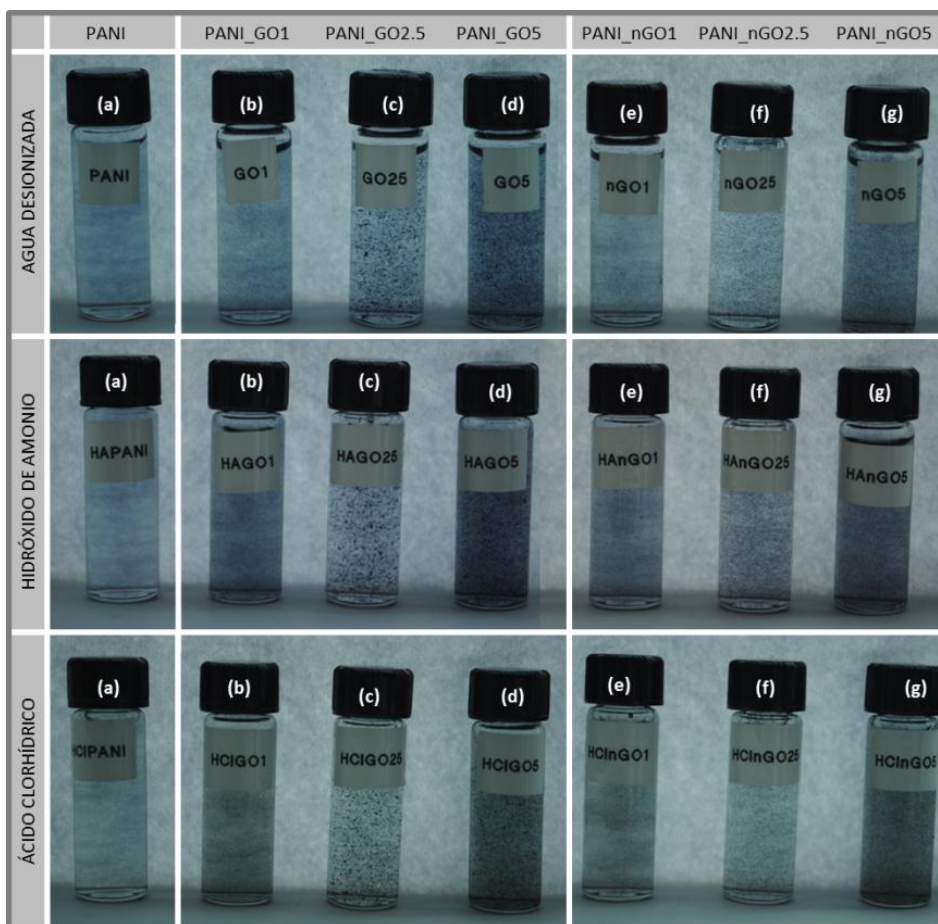


Figura 6.20. Dispersiones con agua desionizada, hidróxido de amonio y ácido clorhídrico de (a)PANI, (b, c, d) PANI_GO al 1.0%, 2.5% y 5.0% respectivamente, (e, f, g) PANI_nGO al 1.0%, 2.5% y 5.0%.

Se observó que la dispersión de PANI es muy estable y aparenta ser una solución, la cual en medio neutro y ácido toma una coloración azul, mientras que en medio básico toma una coloración verde. Este cambio en la coloración corresponde al cambio de dopaje de la polianilina, la presencia de un color verde indica que se trata de sal emeraldina protonada (conductora), mientras que el color azul es indicador de que se tiene polianilina emeraldina base (no conductora) [55]. En cuanto a los nanocompuestos

de PANI_GO/nGO se observó que son menos estables en dispersión acuosa, comparado con la PANI pura. Aparentemente la disminución en la estabilidad coloidal está en función al contenido de GO o nGO en el nanocompuesto, esto por la formación de partículas de mayor tamaño en la dispersión que son posible verlas a simple vista dispersas en el medio. La formación de partículas es evidente porque, tanto en el compuesto de 2.5% de GO como en el de 2.5% de nGO, las dispersiones muestran una estabilidad menor al de los compuestos con 1.0% en peso de GO/nGO. Esta diferencia en la estabilidad coloidal de los compuestos con 2.5% en peso de GO/nGO nos indica que puede deberse a la existencia de una concentración mínima de GO/nGO en la formación de compuestos con PANI en que se forman aglomerados.

Como parte del estudio de la morfología de los compuestos obtenidos por síntesis enzimática, las muestras fueron observadas por microscopía electrónica de barrido (SEM). Las imágenes muestran que se obtuvieron coloides esféricos de PANI (Figura 21a) aun y que no se utilizó ningún tipo de estabilizador. La formación de partículas mediante la síntesis enzimática ya ha sido reportada y ampliamente estudiada, observándose que si se adiciona un estabilizador se favorece además su dispersión en agua [2]. La morfología de los coloides es uniforme con un diámetro de aproximadamente 70-82 nm. Estos coloides carecen de estabilidad coloidal en medio acuoso pues forman agregados con morfología típica de “ramo de uvas” durante el secado. Además se observa que la morfología no se modificó después de la purificación debido a que no fue sometida a ninguna presión por filtrado o centrifugado.

Las imágenes de SEM de los compuestos de PANI con 1.0%, 2.5% y 5.0% en peso de GO se presentan en la Figura 21 b-d. En todos los casos, se puede observar la formación de partículas de PANI sobre la superficie de las hojas del GO. Se sabe que la PANI puede crecer como una película delgada en la mayoría de las superficies debido a la naturaleza

anfífila del monómero. El diámetro de las partículas de PANI unidas a los diferentes compuestos de PANI_GO varía entre los compuestos con 1% y 5% en peso de GO, comparadas con las del compuesto de 2.5% en peso de GO.

Las partículas de PANI tienen un tamaño de diámetro de alrededor de 100-150 nm para los compuestos preparados en presencia de 1.0% y 5.0% en peso de GO. La diferencia en el tamaño de los coloides de PANI para los compuestos de 2.5% en peso de GO, influye sobre su estabilidad coloidal.

Comparando la imagen de SEM del GO en dispersión (Figura 12a) con las imágenes de SEM de los nanocompuestos PANI_GO (Figura 21 b-d) revelan que aparentemente las hojas de GO son más gruesas, ya no son transparentes como en el caso del GO puro.

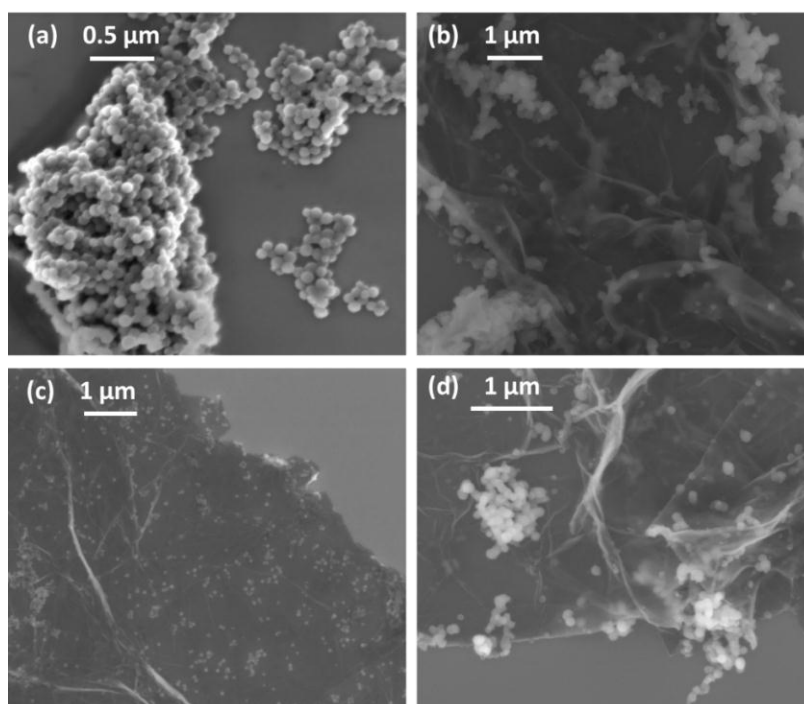


Figura 21. Micrografías de SEM de a) PANI, b) PANI_GO1, c) PANI_GO2.5 y d) PANI_GO5.

La diferencia de transparencia entre las hojas de GO (Figura 12a) y las hojas de los nanocompuestos (Figura 21 b-d) indica que las hojas de GO están recubiertas con una película muy delgada y uniforme de PANI en el caso de los nanocompuestos. Además, se puede observar que, durante la reacción, parte de la PANI formó aglomerados de partículas en solución y se adicionaron a las hojas de GO posteriormente.

Dado que el tamaño de las hojas del GO en dispersión afecta la viscosidad, la difusión y la estabilidad coloidal, los compuestos preparados con GO original (hojas grandes) y con GO de hojas de tamaño nanométrico (nGO) mostraron morfologías muy diferentes. En la Figura 22 se tienen las imágenes de SEM de los compuestos de PANI con 1.0%, 2.5% y 5.0% en peso de nGO. El crecimiento de la PANI ocurre sobre las hojas de nGO, de forma similar que en los compuestos de PANI_GO. En la imagen del compuesto PANI_nGO2.5 (Figura 22c) podemos observar una diferencia en el tamaño de partícula de la PANI comparados con los compuestos PANI_nGO1 y PANI_nGO5 (Figuras 22b y 22d), siendo partículas de PANI más pequeñas cuando se trabaja con 2.5% en peso de nGO, esto que puede ser asociado con su estabilidad coloidal.

A diferencia de los compuestos preparados con el GO en hojas grandes, el compuesto con nGO están formados por aglomerados de partículas del PANI y varias hojas de nGO. Las partículas del PANI tienen un tamaño de diámetro de alrededor de 100-200 nm para los compuestos preparados en presencia de 1.0% y 5.0% en peso de las nGO. Los compuestos de PANI-nGO son propensos a formar aglomerados más grandes y, en consecuencia, es difícil encontrar hojas aisladas de nGO con las partículas del PANI en la muestra. Estos resultados sugieren un efecto de nucleación de las hojas de nGO por la polimerización enzimática de PANI que favorece el crecimiento de precipitados de PANI_nGO.

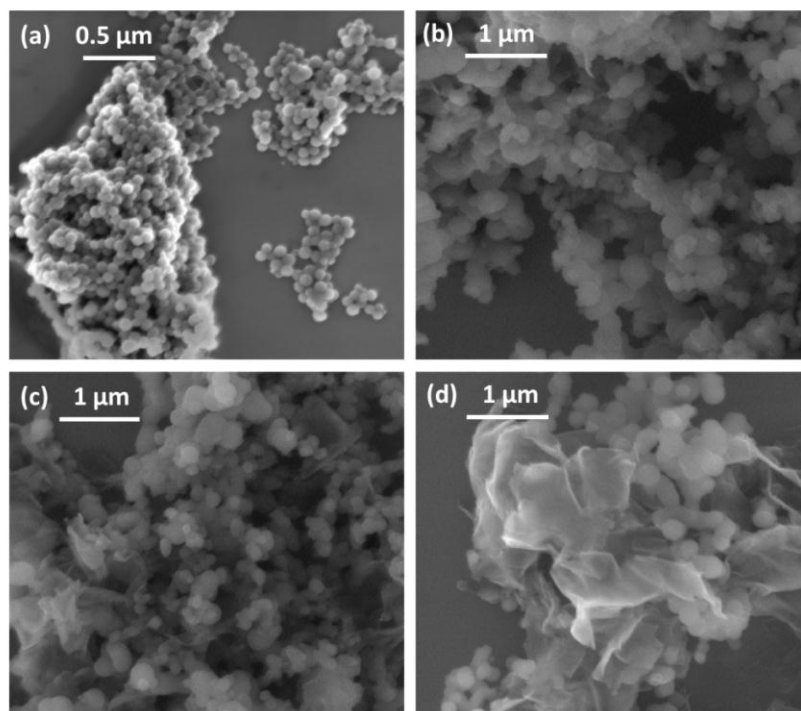


Figura 22. Micrografías de SEM de a) PANI, b) PANI_nGO1, c) PANI_nGO2.5 y d) PANI_nGO5.

Otra forma de estudiar la morfología de los nanocompuestos de PANI fue obteniendo micrografías de TEM. La Figura 23 muestra las imágenes de PANI y de los compósitos al 2.5% de nanocarbón. Los coloides de PANI, como resultado de la polimerización, tienen una distribución de diámetro estrecho y forma esférica, pero presentan poca estabilidad coloidal, formando aglomerados.

En las micrografías correspondientes a los compuestos podemos corroborar la forma en la que se da la polimerización y la formación de nanocompuestos en donde el crecimiento de la PANI se da sobre las hojas de GO/nGO (Figuras 23 b y c). Las micrografías de alta resolución de TEM de las muestras confirman además la formación de hojas más gruesas de los materiales compuestos PANI_GO/nGO (Figura 23 e y f). Lo anterior se concluye debido a que durante la observación del GO sin PANI, las hojas eran

dañadas por el haz de electrones, mientras que durante la observación de los nanocompuestos las hojas de nanocarbón fueron más estables al haz de electrones.

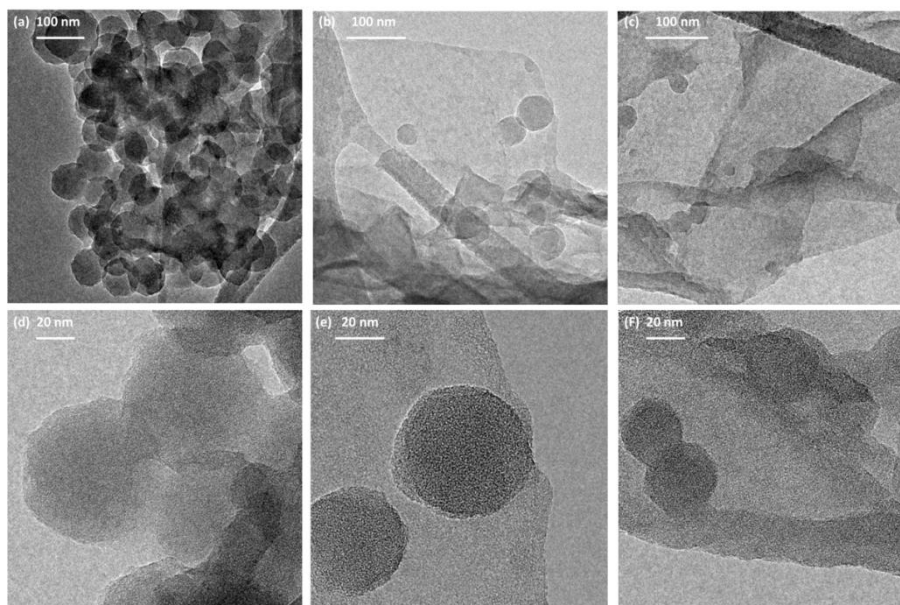


Figura 23. Micrografías de TEM de (a y d) PANI, (b y e) PANI_GO2.5 y (c y f) PANI_nGO2.5.

Los espectros UV-Vis del PANI y de los compuestos PANI_GO/nGO en medios alcalinos se muestran en la Figura 24. El espectro de absorción de la PANI muestra las bandas características a 350 nm y 630 nm debido a la transición $\pi-\pi^*$ de los anillos bencénicos y la absorción de los anillos quinoides respectivamente. Los espectros UV-Vis de los compuestos PANI_GO/nGO presentan la banda de absorción característica del GO en torno a los 230 nm atribuida a la transición $\pi-\pi^*$ en la estructura de GO. Además, todos los espectros UV-Vis para los compuestos muestran las bandas características de los PANI debido a la transición $\pi-\pi^*$ de los anillos bencénicos, y en la absorción de los anillos quinoides [56]. Sin embargo, para la mayoría de los compuestos las bandas se encuentran desplazadas hacia el color azul. Este cambio podría atribuirse a las interacciones no covalentes entre los grupos funcionales de GO y los de la estructura de la PANI a través de la interacción de puentes hidrógeno $>C=O \cdots HN<$. Además, un aumento en la absorbancia se observó para casi todos los espectros de los compuestos.

Esto puede atribuirse a la dispersión y absorción debido a la gran cantidad de partículas con un tamaño mayor que $1.0\ \mu\text{m}$. Se puede observar también que la cantidad de GO/nGO puede ser el responsable de la existencia de partículas más grandes o a la aglomeración entre sus ellas. Siguiendo el estudio del tamaño de partícula en los compuestos, podemos observar que los compuestos de PANI_GO/nGO2.5 que presentan un menor tamaño de partícula de PANI (Figuras 21c y 22c) cuentan con una absorción menor, lo que es consistente con su estabilidad coloidal, posiblemente debido a que las partículas mas grandes dispersan la luz.

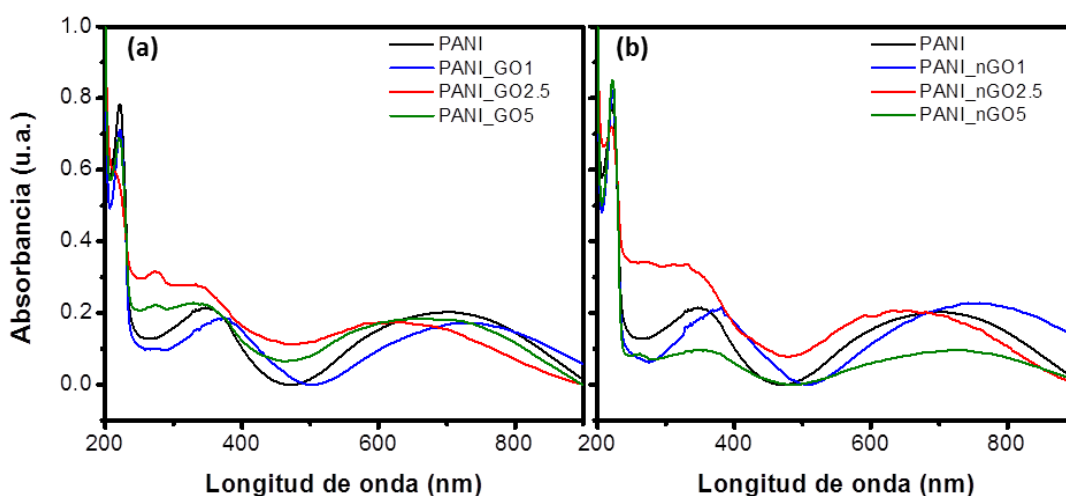


Figura 24. Espectros de UV-Vis de los compuestos a)PANI_GO y b)PANI_nGO.

Siguiendo con el estudio estructural de los nanocompuestos, se utilizó la espectroscopía de FTIR. Los espectros de la PANI y los compuestos de PANI_GO/nGO se muestran en las Figuras 25 y 26 respectivamente. En todos los casos, las bandas principales de los espectros son aquellas características de la PANI debido a que la mayor concentración en el material corresponde a este polímero. Las bandas características de la PANI se encuentran en $1599\ \text{cm}^{-1}$ correspondiente al estiramiento del enlace C-C quinoide, a $1500\ \text{cm}^{-1}$ se observa la banda correspondiente al estiramiento del enlace C-C bencenoide. A $1375\ \text{cm}^{-1}$ y $1305\ \text{cm}^{-1}$ se observan las bandas correspondientes a los estiramientos de los enlaces C-N y C=N respectivamente.

La vibración por flexión dentro del plano del enlace C-H presenta una banda de absorción alrededor de los 1170 cm^{-1} , mientras que la flexión fuera del plano genera una banda de absorción a los 830 cm^{-1} . Se observó la presencia de residuos de TSA en las muestras mediante la identificación de las bandas características del ácido en los espectros. La vibración del enlace S=O presenta varias bandas de absorción a 1010 cm^{-1} , 1030 cm^{-1} y 696 cm^{-1} . Además, la banda a 3383 cm^{-1} asociada a la presencia de enlaces N-H libres se observa en los espectros FTIR de los compuestos, así como algunos cambios en comparación con el espectro de la PANI pura. Una nueva banda aparece alrededor de 3200 cm^{-1} y aumenta con la concentración de GO o nGO en el compuesto. Esta banda está asociada con la formación de enlaces de puente de hidrógeno entre el PANI y GO [57].

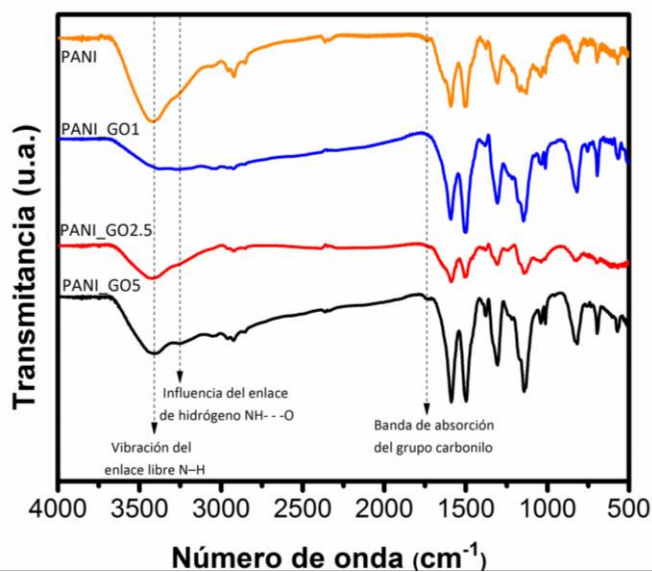


Figura 25. Espectros de FTIR de los compuestos PANI-GO.

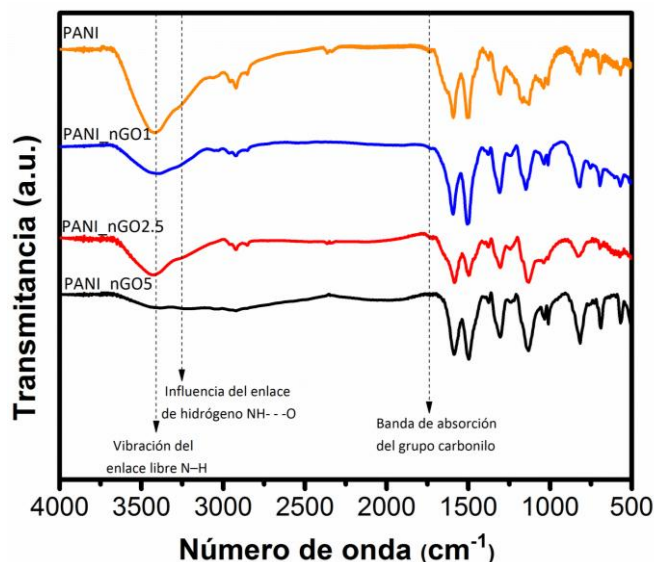


Figura 26. Espectros de FTIR de los compuestos PANI-nGO.

Los resultados del análisis por espectroscopía de XPS a baja resolución para la PANI y los compuestos de PANI_GO/nGO se muestran en las Figuras 27 y 28. Los espectros muestran los picos de fotoemisión asociados al O1s, C1s, N1s y S2p. El nitrógeno proviene de los anillos de la PANI, mientras que la presencia de azufre y oxígeno se debe a restos de TSA que permanecen en las muestras.

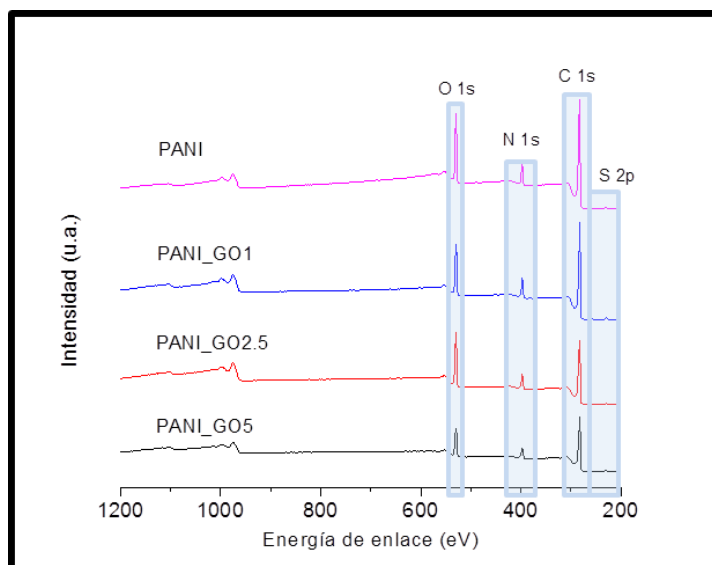


Figura 27. Espectros de XPS de baja resolución para los compuestos de PANI_GO.

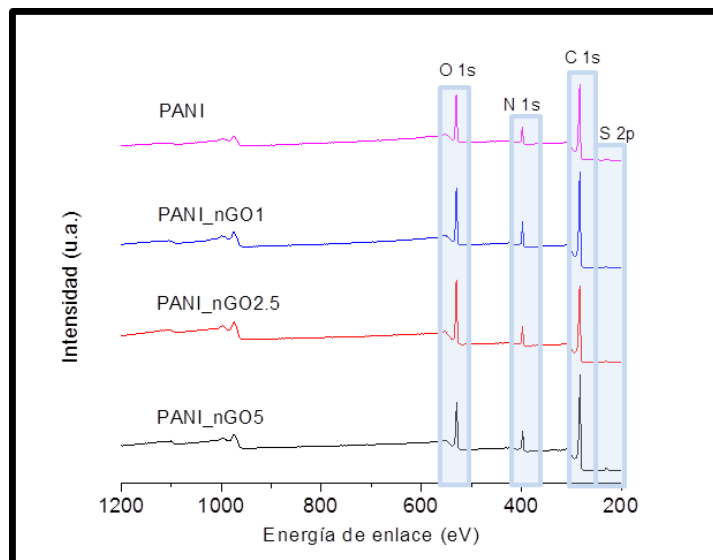


Figura 28. Espectros de XPS de baja resolución para los compuestos de PANI_nGO.

Se calculó la relación de las composiciones en los compuestos PANI_GO respecto al carbón y se obtuvieron los resultados mostrados en la Tabla 2.

Tabla 2. Composición elemental relativa (o semicuantitativa) de la PANI y los compuestos PANI_GO obtenidas mediante XPS.

<i>Muestra</i>	<i>Análisis semicuantitativo</i>			<i>Relaciones atómicas</i>	
	C	O	N	C/O	C/N
PANI	74.5	16.5	9.0	4.5	8.3
PANI_GO1	80.0	12.6	7.4	6.3	10.8
PANI_GO2.5	75.8	16.7	7.5	4.5	10.1
PANI_GO5	78.8	14.0	7.2	5.6	11.0

Con las relaciones anteriores podemos observar que el contenido de los compuestos C, O y N en los nanocompuestos de PANI con GO permanece constante o aumenta con respecto con la polianilina. Esto indica que las hojas de GO se encuentran completamente cubiertas con PANI.

De igual manera se presentan en la Tabla 3 las relaciones de composición con respecto al carbón de los nanocompuestos de PANI con nGO.

Tabla 3. Composición elemental relativa (o semicuantitativa) de la PANI y los compuestos PANI_nGO obtenidas mediante XPS..

<i>Muestra</i>	<i>Análisis semicuantitativo</i>			<i>Relaciones atómicas</i>	
	C	O	N	C/O	C/N
PANI	74.5	16.5	9.0	4.5	8.3
PANI_nGO1	77.0	14.0	9.1	5.5	8.5
PANI_nGO2.5	76.0	16.0	8.0	4.7	9.5
PANI_nGO5	79.5	12.4	8.2	6.4	9.7

Los resultados de la Tabla 3 muestran que los análisis de los compuestos presentan una relación C/O y C/N igual o superior a la de la PANI. Las relaciones de composición indican que las hojas de nGO se encuentran recubiertas de PANI.

Para un análisis más a fondo de la posible interacción entre los enlaces de carbono de la PANI y el GO/nGO, se realizó la deconvolución del pico de C1s adquirido a alta resolución. Los resultados correspondientes a la PANI y los nanocompuestos con 2.5% de GO y nGO se muestran en la Figura 29.

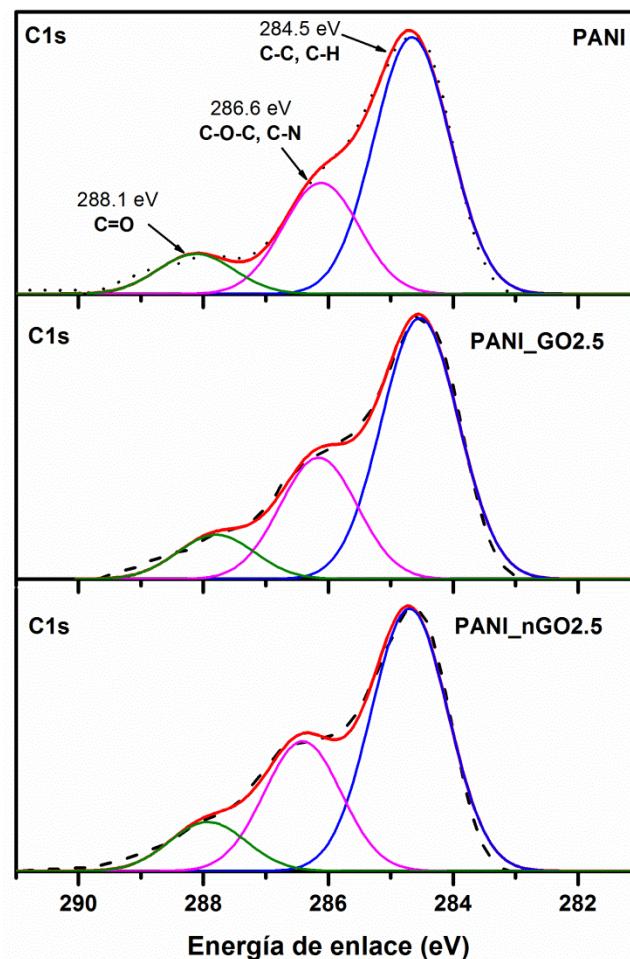


Figura 29. Deconvolución del C1s de la PANI y los compuestos PANI_GO2.5 y PANI_nGO2.5.

Todas las curvas fueron deconvolucionadas en tres componentes. En el espectro de la PANI la primer componente se encuentra a 284.5 eV que se ha reportado para los ambientes electrónicos de C-C y C-H [24]. La segunda componente se presenta a 286.6 eV y es atribuida al O-C-O y C-N [24]. La última componente a 288.1 eV que corresponde al enlace C=O de la PANI [58]. Estos grupos funcionales forman parte de la superficie de la PANI, debido a la exposición al medio oxidante (H_2O_2). Los compuestos de PANI con GO/nGO presentan las mismas componentes que la PANI pura, indicando que no se modifica su estructura.

Los espectros obtenidos por medio de espectroscopía Raman, correspondientes al análisis de la PANI y los nanocompuestos PANI_GO/nGO, se muestran en las Figuras 30 y 31. En ambos casos los espectros muestran los picos característicos de la estructura de la PANI. Se tienen señales de desplazamiento raman alrededor de 416, 517, 814, 1180, 1227, 1324, 1500 y 1595 cm^{-1} , que corresponden al movimiento del C-H fuera del plano, la torsión C-N-C fuera del plano, deformación del anillo de benceno sustituido, flexión del C-H dentro del plano, deformación del anillo dentro del plano, estiramiento C-N, estiramiento del enlace quinoide C=N y estiramiento del enlace C-C bencenoide respectivamente [51]. La presencia de los picos característicos de la PANI indica que esta crece sobre las hojas del GO y nGO. Las señales características del GO y nGO se traslapan con las señales mencionadas de la PANI, por lo que no se puede hacer un análisis de las bandas D y G, indicadoras del orden estructural presente en el GO y nGO.

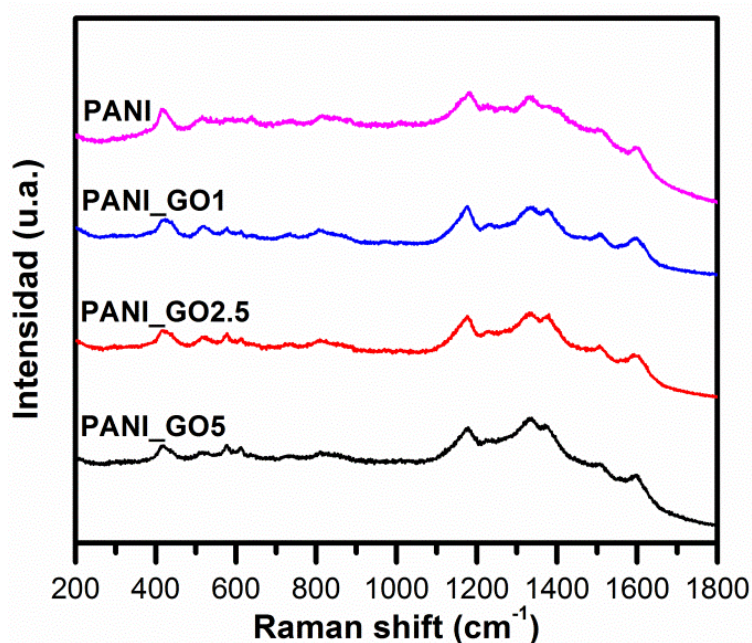


Figura 30. Espectros de Raman de la PANI y nanocompuestos PANI_GO, modificados con algoritmo de promedios vecinales para disminuir el ruido.

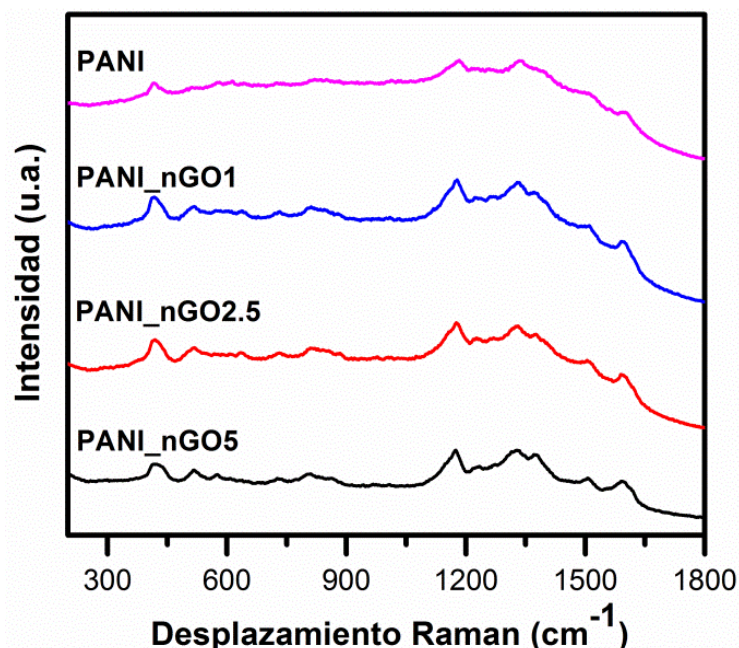


Figura 31. Espectros de Raman de la PANI y nanocompuestos PANI_nGO, modificados con algoritmo de promedios vecinales para disminuir el ruido.

La Figura 32 muestra los termogramas de TGA correspondientes al análisis termogravimétrico de la PANI y sus compuestos formados con GO y nGO. El compuesto de PANI con 2.5% en peso tanto de GO como de nGO muestra una estabilidad térmica menor comparado con los otros compuestos. Para todos los compuestos se observan tres pérdidas de peso. La primera pérdida de peso por debajo de 100°C es asociada a la pérdida de solventes o de la humedad absorbida en la muestra [46]. La segunda y tercera pérdida de peso que se observan entre los 300°C y los 450°C. La menor estabilidad térmica de los compuestos sintetizados enzimáticamente se atribuye a la presencia de un número pequeño de defectos en la estructura de la cadena de la PANI, principalmente acoplamiento orto o ramificaciones [59] que promueven su degradación térmica. Por último, el polímero comienza a degradarse térmicamente a una temperatura de 450°C aproximadamente. Entre 200 y 300 °C, la disminución en peso puede deberse también a los enlaces de oxígeno presentes en el GO/nGO.

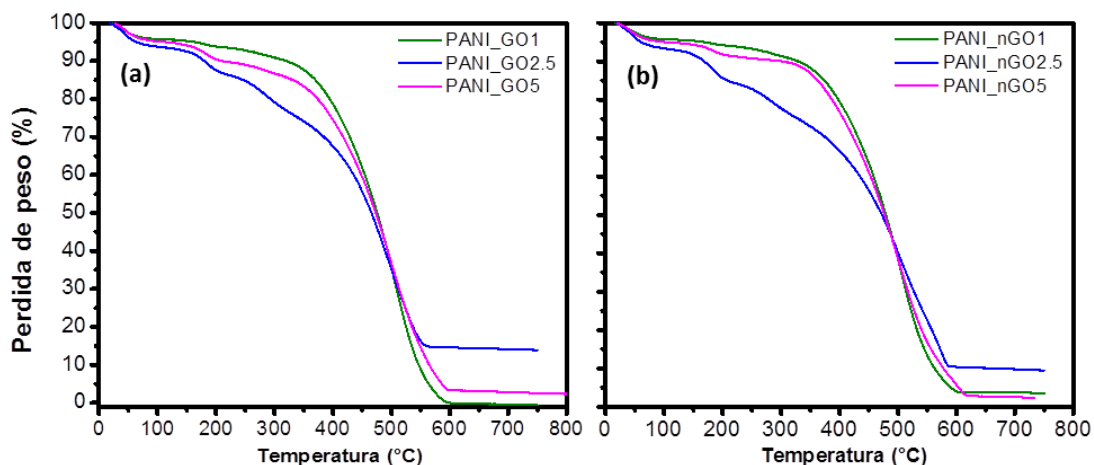


Figura 32. Análisis de TGA para los compuestos a) PANI_GO y b) PANI_nGO.

3.3 PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS DE COMPUESTOS DE POLIANILINA CON ÓXIDO DE GRAFENO Y DE POLIANILINA CON ÓXIDO DE GRAFENO NANOMÉTRICO *IN-SITU* SOBRE CRISTALES DE CUARZO RECUBIERTOS CON ORO

La Figura 33 muestra las imágenes de SEM de las películas formadas *in-situ* por las reacciones enzimáticas de polimerización de la PANI y los nanocompuestos de PANI_GO/nGO. La Figura 33a muestra la película de PANI en donde se observa una morfología granular con partículas coloides adheridas a la superficie. Por otro lado, en las Figuras 33b-e se observa que las películas de los nanocompuestos están formadas tanto las hojas de GO/nGO como partículas coloidales de PANI. Se puede apreciar en las imágenes de SEM que las partículas coloidales de PANI adheridas a las hojas de nanocarbón son de menor tamaño que las partículas de PANI cuando no se tiene presencia de GO/nGO (Figura 33a).

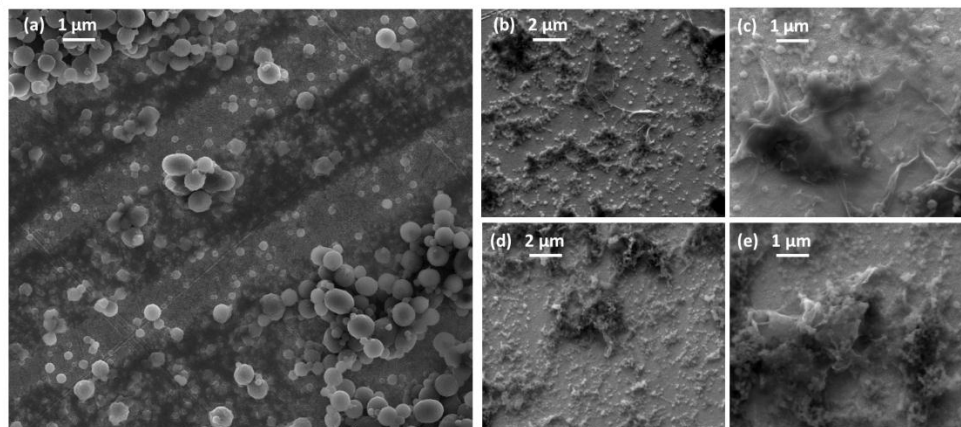


Figura 33. Micrografías de SEM de a) PANI, (b y d) PANI_GO2.5 y (c y e) PANI_nGO2.5.

Después del depósito enzimático de las películas, la respuesta electroquímica de la PANI fue analizada por voltametría cíclica (Figura 34). La película de PANI muestra dos picos anchos de oxidación alrededor de 300 mV y 500 mV durante el escaneo anódico (Figura 34c), indicando las transiciones entre diferentes estados de oxidación de la PANI, específicamente, de leucoemeraldina a emeraldina y de emeraldina a pernigranilina [60]. Las respectivas reducciones se muestran durante el escaneo catódico, indicando que la oxidación es reversible. Durante el escaneo de potencial, el polímero llega a desdoparse durante la etapa de leucoemeraldina y la pérdida de masa se refleja con el cambio de frecuencia (Figura 34b) que corresponde a una cantidad de masa de $4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$. Esto se atribuye a la pérdida y la absorción de aniones de cloro durante el proceso de dopaje-redopaje. La ganancia de masa se produce entre la etapa de emeraldina, a un potencial entre 300 mV y 500 mV, como se esperaba. Los cambios repentinos en la resistencia (R_m) son debidos a cambios en la disipación de energía del cristal de cuarzo [61-62], principalmente debido a cambios en la capacidad de amortiguación de la película depositada, que a su vez resultan de los cambios en las propiedades mecánicas de la película depositada de PANI. No obstante, en las películas enzimáticamente sintetizadas el cambio en la resistencia (R_m) del cristal de cuarzo es coherente con los cambios de masa (Figura 34a), es decir, ambas curvas tienen las

mismas formas, lo que indica que no hay ningún cambio significativo en las propiedades elásticas de la película PANI durante la prueba.

El comportamiento de la PANI discutido anteriormente se puede observar también en los análisis de los compuestos PANI_GO2.5 y PANI_nGO2.5. (Figura 34).

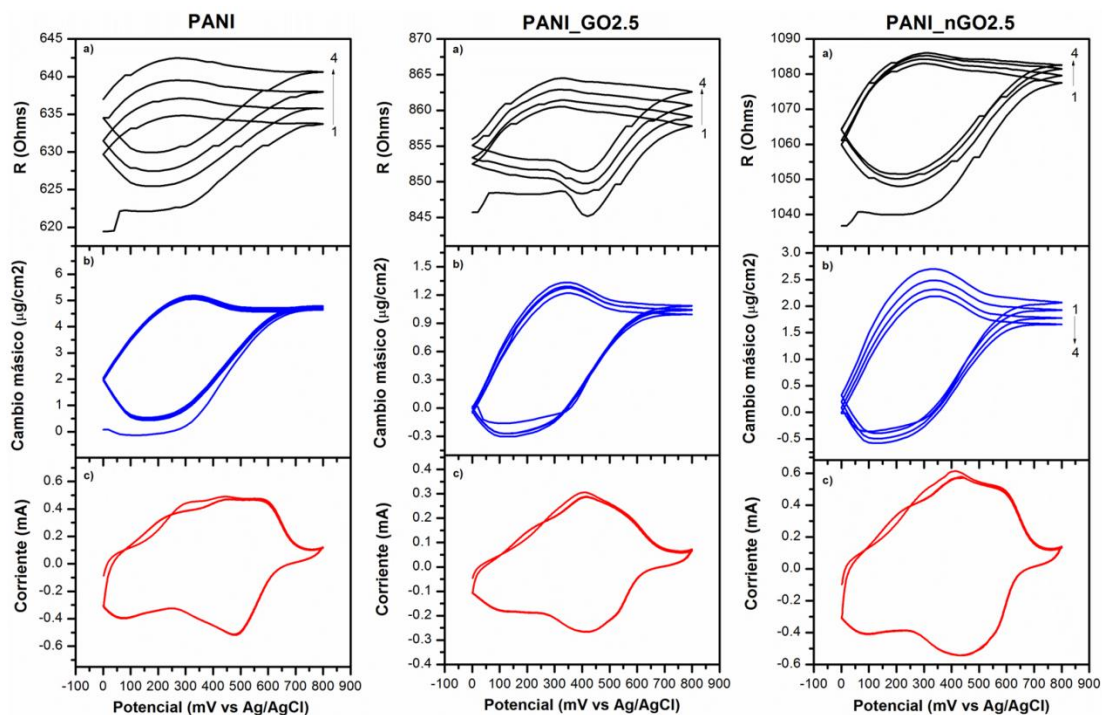


Figura 34. Voltametría cíclica aplicada a las películas de la PANI y los nanocompuestos PANI_GO2.5 y PANI_nGO2.5 sintetizados enzimáticamente.

Capítulo 4
CONCLUSIONES

- El óxido de grafeno puede obtenerse a partir de hojuelas de grafito, las cuales, por medio de reacciones químicas, se convierten en óxido de grafito que al exfoliarse ultrasónicamente dan como producto final el GO.
- El someter disoluciones de GO a tratamiento ultrasónico por varias horas ocasiona el rompimiento de las hojas de GO, obteniendo hojas de GO de tamaño nanométrico.
- La reacción de polimerización enzimática *in situ*, utilizando peroxidasa de rábano como catalizador, permite la síntesis de nanocompuestos de polianilina con óxido de grafeno.
- Las cantidades de GO utilizada en la formación de los nanocompuestos con PANI no inhibe la actividad de la peroxidasa de rábano al momento en que cataliza la reacción.
- La PANI forma nanocompuestos con el GO por medio de un crecimiento sobre sus hojas, sin importar el tamaño lateral de estas.
- La formación de películas de PANI y de los nanocompuestos de PANI-GO/nGO se logra por medio de un depósito *in situ* utilizando como sustrato un cristal de cuarzo recubierto con oro dentro de la reacción de polimerización.

REFERENCIAS

1. R. Cruz-Silva, P. Roman y J. Romero, en *Biocatalysis in Polymer Chemistry*, Editado por Katja Loos (Wiley-Vch Verlag, 2011), p. 187.
2. R. Cruz-Silva, C. Ruiz-Flores, L. Arizmendi, J. Romero-García, E. Arias-Marin, I. Moggio, F.F. Castillon y M.H. Farías, *Polymer* **47**, pp.1563–1568 (2006).
3. C. Vallés, P. Jiménez, E. Muñoz, A. M. Benito y W. K. Maser, *J. Phys. Chem.* **115**, pp.10463-10474 (2011).
4. F. Lux, *Polymer* **35**, 2951 (1994).
5. P. C. Innis, I. D. Norris, L. A. P. Kane-Maguire y G. G. Wallace, *Macromolecules* **31**(19), pp.6521–6528 (1998).
6. X. Yan, J. Chen, J. Yang, Q. Xue y P. Miele, *ACS Applied Mat. et Interfaces* **2** (9), pp.2521-2529 (2010).
7. Y. Liao, C. Zhang, Y. Zhang, V. Strong, J. Tang, X-G. Li, K. Kalantar-Zadeh, E. M. V. Hoek, K. L. Wang y R. B. Kaner, *Nano Lett.* **11** (3), pp.954–959 (2011).
8. Y. Zhang, S.V. Dubonos, I.V. Grigorieva y A.A. Firsov. *Science* **306**, pp.666–669 (2004).
9. A.K. Geim, *Science* **324**, pp.1530–1534 (2009).
10. K. S. Novoselov, A.K. Geim, S.V. Morozov, D. Jiang, Y. Zhang, S.V. Dubonos, I.V. Grigorieva y A.A. Firsov, *Science* **306**, pp. 666–669 (2004).
11. A. Reina, X.T. Jia, J. Ho, D. Nezich, H.B. Son, V. Bulovic, M.S. Dresselhaus y J. Kong, *Nano Lett.* **9**, pp. 30–35 (2009).
12. P.W. Sutter, J.I. Flege, E.A. Sutter, *Nat. Mater.* **7**, pp. 406–411 (2008).
13. S. Park y R.S. Ruoff, *Nat. Nanotechnol.* **4**, pp. 217–224 (2009).
14. L. J. Cote, R. Cruz-Silva y J. Huang, *J. Am. Chem. Soc.* **131** (31), pp.11027–11032 (2009).
15. S. Virji, R. B. Kaner y B. H. Weiller, *Chem. Mater.* **17**, p.1256 (2005).
16. H. L. Wang, J. Gaos, J. M. Sansiñena y P. McCaethy, *Chem. Mater.*, **14**, p.2546 (2002).
17. J. Pellegrino, R. Radebaugh y B. R. Mattes, *Macromolecules*, **29**, p.4985 (1996).
18. K.S. Ryu, S. K. Jeong, J. Joo y K. M. Kim, *J. Phys. Chem.* **111**, p.731 (2007).
19. T. Fernández-Otero, *Revista Iberoamericana de Polímeros* **4** (4), p. 1-5 (2003).

20. T.A. Skotheim, R.L. Elsenbaumer y J.R. Reynolds, en *Handbook of Conducting Polymers*, Editado por Marcel Dekker (1998), p.437.
21. G. Inzelt, en *Conducting Polymers: a new era in Electrochemistry*, Editado por Springer (2012), Introducción.
22. A. Liu, C. Li, H. Bai y G. Shi, *J. Phys. Chem.* **114**, pp. 22783-22789 (2010).
23. E. Flores-Loyola, R. Cruz-Silva, J. Romero-García, J.L. Angulo-Sánchez, F.F. Castillon y M.H. Farías, *Mater. Chem. Phys.* **105** (01), p.136-141 (2007).
24. P. Roman-Cuevas, Tesis de Licenciatura “Inmovilización de Biocatalizadores en Sílica Mesoporosa y un Polímero Termosensible y su Aplicación en la Preparación de Nanocompuestos con Polímeros Conductores”, Universidad Autónoma del Estado de Morelos (2008), pp. 11.
25. D.F. Acevedo, Tesis Doctoral “Estudio de la Síntesis y Propiedades de Nuevos Materiales Aplicando Técnicas de Química Combinatoria”, p. 133 (2005).
26. E.M. Genies, G. Bidan y A.F. Díaz, *Chem. J.* **149**, p.101 (1983).
27. T.F. Otero y C. Santamaría, *Solid State Ionics* **63**, p.810 (1993).
28. <http://obtenciondeenenzimas.blogspot.com>
29. A.G. MacDiarmid, J.C. Chiang, M. Halpern, W.S. Huang, S.L. Mu, N.L.D. Somarisi, W. Wu y S.I. Yaniger. *Molecular Crystals and Liquid Crystals* **121**, p.173 (1985).
30. <http://www.rcsb.org>, PDB ID: 1ATJ.
31. S. Saidman, E.H. Rueda y M.L. Ferreira, *Biochem. Eng. J.* **28**, pp.177-186 (2006).
32. P.A. Serena-Domingo, en “La Nanotecnología” (2010), pp.31-33.
33. H.W. Kroto, J.R. Heath, S.C. Obrien, R.F. Curl y R.E. Smalley, *Nature* **312**, pp.162-163 (1985).
34. A. Menéndez-Velázquez, en “Una Revolución en Miniatura: Nanotecnología al Servicio de la Humanidad” (2010), p.60.
35. A.K. Geim y K.S. Novoselov, *Nat. Mater.* **6**, pp.183–191 (2007).
36. C. Berger, Z.M. Song, X.B. Li, X.S. Wu, N. Brown, C. Naud, D. Mayou, T.B. Li, J. Hass, A.N. Marchenkov, E.H. Conrad, P.N. First y W.A. de Heer, *Science* **312**, pp.1191–1196 (2006).

37. C. Berger, Z. Song, T. Li, X. Li, A.Y. Ogbazghi, R. Feng, Z. Dai, A.N. Marchenov, E.H. Conrad, P.N. First y W.A. de Heer, *J. Phys. Chem.* **108**, pp.19912-19916 (2004).
38. K.S. Kim, Y. Zhao, H. Jang, S.Y. Lee, J.M. Kim, K.S. Kim, J.H. Ahn, P. Kim, J.Y. Choi y B.H. Hong, *Nature* **457**, p.706 (2009).
39. A. Lerf, H. He, M. Forster y J.J. Klinowski, *Phys. Chem.* **102**, pp.4477–4482 (1998).
40. P. Steurer, R. Wissert, R. Thomann y R. Mülhaupt, *Macromol. Rapid Commun.* **30**, pp.316–327 (2009).
41. M.J. McAllister, J.L. Li, D.H. Adamson, H.C. Schniepp, A.A. Abdala, J. Liu, M. Herrera-Alonso, D.L. Milius, R. Car, R.K. Prud’homme e I.A. Aksay, *Chem. Mater.* **19**, pp. 4396–4404 (2007).
42. A. Liu, C. Li, H. Bai y G. Shi, *J. Phys. Chem.* **114**, pp. 22783-22789 (2010).
43. M. Choy, Polímeros Conductores como Alternativa.
44. H.J. Lee, Z.X. Jin, A.N. Aleshin, J.Y. Lee, M.J. Goh, K. Akagi, Y.S. Kim, D. W. Kim y Y.W. Park, *J. Am. Chem. Soc.* **126**(51), pp 16722-16723 (2004).
45. G. Wu, L. Li, J.H. Li y B.Q. Xu, *J. of Power Sour.* **155**, pp.118-127 (2006).
46. N. Trinh-Tung, T. Van-Khai, M. Jeon, Y. Jin-Lee, H. Chung, J.H. Bang y D. Sohn, *Macromolecular Res.* **10**, pp. 203-208 (2011).
47. X. Fan, W. Peng, Y. Li, X. Li, S. Wang, G. Zhang y F. Zhang, *Adv. Mater.* **20**, pp. 4490-4493 (2008).
48. G. Lu, S. Mao, S. Park, R.S. Ruoff y J. Chen, *Nano Res.* **2**, pp.192-200 (2009).
49. A. Castro-Beltrán, S. Sepúlveda-Guzmán, W.J. De la Cruz-Hernández y R. Cruz-Silva, *Ingenierías XIV* (52), pp. 34-42(2011).
50. C.Y. Su, Y. Xu, W. Zhang, J. Zhao, X. Tang, C.H. Tsai y L.J. Li, *Chem. Mater.* **21**, pp.5674-5680 (2009).
51. H. Wang, Q. Hao, X. Yang, L. Lu y X. Wang, *App. Mat. and Int.* **2**(3), pp.821-828 (2010).
52. L. Chang, S. Wu y S. Chen, *J. Mater. Sci.* **46**, pp.2024-2029 (2011).
53. S. Stankovich, D. A. Dikin, R.D. Piner, K.A. Colas, A. Kleinhammes, Y. Jia, Y. Wu, S.T. Nguyen y R.S. Ruoff, *Carbon* **45**, pp. 1558–1565 (2007).

54. J.I. Paredes, S. Villar-Rodil, A. Martínez-Alonso y J.M.D. Tascón, *Langmuir* **24**, pp.10560-10564 (2008).
55. J.I. Paredes, S. Villar-Rodil, P. Solís-Fernández, A. Martínez-Alonso y J.M.D. Tascón, *Langmuir* **25**(10), pp.5957-5968 (2009).
56. R. Cruz-Silva, L. Arizmendi, M. Del-Angel y J. Romero-García, *Langmuir* **23**, pp. 8-12(2007).
57. W. Zheng, M. Angelopoulos, A. J. Epstein y A. G. Mac Diarmid, *Macromolecules* **30** (10), pp. 2953-2955(1997).
58. <http://www.uco.es/~iq2sagrl/TranspTema8.pdf77>
59. J. Romero-García, R. Cruz-Silva, C. Ruiz-Flores, E. Arias-Marín, A. Ledezma-Pérez, I. Moggio y E. Flores-Loyola, *Revista Mexicana de Ingeniería Química* **2** (003), pp. 173-181 (2003).
60. Malinauskas, A., *Polymer* **42**, pp.3957-3972 (2001).
61. M.M. Ayad y M.A. Shenashin, *Eur. Polym. J.* **40**, pp.197-202 (2004).
62. M.A. Shenashen, M.M. Ayad, N. Salahuddin y M.A. Youssif, *React. Funct. Polym.* **70**, pp.843-848 (2010).